

**Síntesis de sideróforos y análogos de dos
bacterias patógenas en peces.
Modificación del método de Murata en
compuestos acíclicos con equilibrios
conformacionales complejos.**

Autora: Yuri Segade Parrado

Tesis doctoral UDC / 2015

Directores:

Carlos Jiménez González

Jaime Rodríguez González

*DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
ÁREA DE QUÍMICA ORGÁNICA*

Programa regulado por el RD 1393/2007: Química Ambiental y Fundamental



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Departamento de Química Fundamental

Acta de Tesis

El tribunal, nombrado por el Excmo. Sr. Rector de la Universidade da Coruña para calificar la tesis doctoral titulada **“Síntesis de sideróforos y análogos de dos bacterias patógenas en peces. Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos”** dirigida por los Drs. Carlos Jiménez González y Jaime Rodríguez González, presentada por Dña. **Yuri Segade Parrado** y constituido en el día de la fecha por los miembros que subscriben la presente Acta, una vez efectuada la defensa por la doctoranda y contestadas las objeciones y/o sugerencias que se le han formulado, ha otorgado por la calificación de:

--

En A Coruña, a..... de de 2015

EL PRESIDENTE

Dra. Mercedes Amat Tusón
Catedrática de Universidad
Universidad De Barcelona

Firmado

EL SECRETARIO

Dr. Luís Sarandeses da Costa
Catedrático de Universidad
Universidade da Coruña

Firmado

EL VOCAL

Dr. Carmen Cuevas Marchante
Directora I+D
Pharmamar S.A.U.

Firmado

Doña **Yuri Segade Parrado**:

Presenta la memoria adjunta, titulada **“Síntesis de sideróforos y análogos de dos bacterias patógenas en peces. Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos”** para optar al grado de doctora en Química que ha sido realizada bajo la dirección de los profesores D. Carlos Jiménez González y D. Jaime Rodríguez González en los laboratorios del Departamento de Química Fundamental.

A Coruña, a 25 de septiembre de 2015.

Fdo. Yuri Segade Parrado

Fdo. Carlos Jiménez González

Fdo. Jaime Rodríguez González

Don **Carlos Jiménez González**, Catedrático de Universidad, y Don **Jaime Rodríguez González**, Profesor Titular de Universidad, pertenecientes al Departamento de Química Fundamental (Área de Química Orgánica) de la Facultad de Ciencias de la Universidade da Coruña,

Certifican:

Que la memoria adjunta, titulada **“Síntesis de sideróforos y análogos de dos bacterias patógenas en peces. Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos”** ha sido realizada bajo su dirección por la licenciada en Química Doña **Yuri Segade Parrado**, el Área de Química Orgánica dependiente del Departamento de Química Fundamental.

Considerando que constituye trabajo de Tesis, autorizan su presentación en la Universidade da Coruña para optar al grado de Doctor en Química.

Y para que así conste, expiden el presente certificado en A Coruña, a 25 de septiembre de 2015.

A Coruña, a 25 de septiembre de 2015.

Fdo. Carlos Jiménez González

Fdo. Jaime Rodríguez González

Tanto más crece el esfuerzo, cuanto más
consideramos la grandeza de lo emprendido.

Lucio A. Séneca

Agradecimientos

Los agradecimientos, esa parte de la tesis que uno escribe de último pero que todos leen de primero. Quiero agradecer la realización de este trabajo:

En primer lugar, a mis directores de tesis: los profesores Carlos Jiménez González y Jaime Rodríguez González, por haberme permitido formar parte de su grupo de investigación. Gracias por vuestra ayuda.

Al grupo de investigación del profesor Manuel Luís Lemos Ramos, de la Universidad de Santiago de Compostela, por la realización de las pruebas biológicas y a Israel Fernández López de la Universidad Complutense de Madrid, por la realización de los cálculos computacionales para los estados de transición en la formación de los compuestos **182a**, **183a** y **183b**.

A todos los profesores del departamento, en especial a los Dres. Carlos Peinador y M^a Teresa Rodríguez, por la ayuda recibida.

A los *Servicios de Apoio á Investigación* (SAI) de la Universidade da Coruña por las medidas de RMN, MS y CD realizadas.

A la Xunta de Galicia por la concesión del proyecto 10PXIB235157PR, al Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) por la concesión del proyecto AGL2012-39274-C02-02 y a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) por la concesión del proyecto CTO2008-04024/BQU.

También quiero agradecer a mis compañeros de carrera y a los profesores del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Santiago de Compostela que me “descubrieron” la Orgánica.

Gracias a mis compañeros de laboratorio de la Universidade da Coruña con los que he pasado todos estos años y que han proporcionado un ambiente de trabajo inigualable, a la Dra. Raquel Soengas y en especial al Dr. Marcos Montaos por toda su dedicación, ayuda y consejos y de quien a nivel laboral, y sobre todo personal, sólo tengo palabras de elogio. Gracias por tu paciencia y sosiego en estos últimos meses.

Quiero agradecer también a toda mi familia. A mi madre, a mis hermanos, y sobre todo a mis sobrinos Andrea, Sarai, Sofía, Hugo, Rodrigo, Sara y Martina, por todo el cariño recibido.

A todos, mi más sincera gratitud.

Resumen

La presente memoria está estructurada en cuatro capítulos:

Capítulo I. Se describe la importancia de la acuicultura y cómo solucionar uno de sus mayores problemas: las enfermedades infecciosas originadas por diversas bacterias patógenas. También se resalta la importancia de la determinación de la configuración relativa, siendo el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento, conocido como el método de Murata, una de las estrategias más importantes en compuestos acíclicos o con sistemas flexibles.

Capítulo II. Se realizó la síntesis de una serie de análogos de acinetobactina, sideróforo aislado de la bacteria *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, responsable de la forunculosis en peces, con el propósito de establecer algunas relaciones estructura-actividad siderófora para este tipo de compuestos. Los resultados obtenidos en los bioensayos de los análogos sintetizados mostraron que la presencia del grupo metilo en el anillo de isoxazolidinona es esencial para el reconocimiento molecular por la proteína receptora de acinetobactina y que la estereoquímica de los centros asimétricos no influye en el reconocimiento molecular de la misma.

Capítulo III. Se consiguió la primera síntesis total de prepiscibactina, un posible intermedio en la biosíntesis de piscibactina, sideróforo aislado de la bacteria *P. damsela* subsp. *piscicida*, responsable de la pasteurellosis en peces. El producto sintético permitió no sólo confirmar la estructura y la estereoquímica relativa propuesta para prepiscibactina, sino también establecer su configuración absoluta (9*R*,10*S*,12*R*,13*S*). Además, teniendo en cuenta la similitud estructural parcial entre prepiscibactina y piscibactina, se realizó una aproximación a la síntesis de piscibactina.

Capítulo IV. Se llevó a cabo la síntesis de sistemas acíclicos oxigenados y nitrogenados 1,2 y 1,3-disustituídos con el fin de corroborar la nueva metodología del análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (VT-JCBA) para resolver aquellos sistemas en los que el método de Murata no permite determinar su estereoquímica relativa.

Resumo

A presente memoria está estruturada en catro capítulos:

Capítulo I. Descríbese a importancia da acuicultura e cómo solucionar un dos seus maiores problemas: as enfermidades infecciosas orixinadas por diversas bacterias patóxenas. Tamén resáltase a importancia da determinación da configuración relativa, sendo a análise configuracional baseada nas constantes de acoplamento, coñecido como o método de Murata, unha das estratexias máis importantes en compostos acíclicos ou con sistemas flexibles.

Capítulo II. Realizouse a síntese dunha serie de análogos de acinetobactina, sideróforo illado da bacteria *A. salmonicida* subsp. *Salmonicida* responsable da forunculose en peixes, co propósito de avaliar como as variacións estruturais inflúen na súa actividade siderófora. Os resultados obtidos nos bioensaios mostraron que a presenza do grupo metilo no anel de isoxazolidinona é esencial para o recoñecemento molecular pola proteína receptora de acinetobactina e que a estereoquímica dos centros asimétricos non inflúe no recoñecemento molecular da mesma.

Capítulo III. Conseguiuse a primeira síntese total de prepiscibactina, un posible intermedio na biosíntese de piscibactina, illado da bacteria *P. damsela* subsp. *Piscicida* responsable da pasteurelose en peixes. O produto sintético permitiu confirmala estrutura proposta para prepiscibactina e establecer unha configuración absoluta (9*R*,10*S*,12*R*,13*S*), que fora predita mediante cálculos computacionais e experimentos NOE. Ademais, tendo en conta a similitude estrutural parcial entre prepiscibactina e piscibactina, realizouse unha aproximación á síntese de piscibactina.

Capítulo IV. Levouse a cabo a síntese de sistemas acíclicos osixenados e nitroxenados 1,2 e 1,3-disustituídos co fin de corroborar a nova metodoloxía da análise configuracional baseada nas constantes de acoplamento a temperatura variable (VT-JCBA) para resolver aqueles sistemas nos que o método de Murata non permite determinala súa estereoquímica relativa.

Abstract

This memory is divided in four chapters:

Chapter I. We describe the importance of aquaculture and how to solve one of their biggest problems: infectious diseases caused by various pathogenic bacteria. The importance of determining the relative configuration is also highlighted, it is the study of homo/heteronuclear coupling constants (Murata's method) one of the most important strategies.

Chapter II. In order to compare the influence of structure of acinetobactin on the siderophore activity, siderophore isolated from the bacterium *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, several analogues were prepared. The evaluation of the siderophore activity of them indicate that the presence of the methyl group at isoxazolidinone ring is required for using the FstB receptor as the route of entry and there is a lack of stereoisomeric influence on the siderophore activity.

Chapter III. We have accomplished the first total synthesis of prepiscibactin, a possible intermediate in the biosynthesis of piscibactin, the siderophore responsible for the iron uptake of the bacterium *P. damsela* subsp. *piscicida*. The synthetic product confirmed the proposed structure for prepiscibactin and established the absolute configuration (9*R*,10*S*,12*R*,13*S*), that confirmed the previous relative stereochemistry proposed on the basis of NOE and computational methods. The knowledge acquired in the synthesis of prepiscibactin, allowed us a synthetic approach of piscibactin.

Chapter IV. We synthesized 1,2 and 1,3-substituted acyclic systems to confirm the methodology that involves the measurement of coupling constants and its variation with temperature change (*VT-JCBA*) to elucidate those systems whose stereochemistry cannot be deduced applying the original Murata methodology.

Índice

Abreviaturas y acrónimos	v
CAPÍTULO I	
Introducción	
1. Importancia de la acuicultura	- 3 -
2. Principales enfermedades de peces causadas por bacterias en sistemas de acuicultura	- 5 -
2.1. Yersiniosis	- 6 -
2.2. Vibriosis	- 6 -
2.3. Forunculosis	- 7 -
2.4. Pasteurellosis	- 8 -
3. El papel del hierro en el desarrollo bacteriano	- 9 -
4. Los sideróforos	- 10 -
4.1. Tipos de sideróforos	- 12 -
4.2. Aplicaciones terapéuticas de los sideróforos	- 14 -
4.2.1. Sideróforos en el tratamiento de enfermedades	- 15 -
4.2.2. Sideróforos en el desarrollo de nuevos antimicrobianos	- 16 -
5. Determinación de la configuración relativa	- 22 -
CAPÍTULO II	
Síntesis de análogos de acinetobactina	
1. Antecedentes	- 27 -
1.1. Bacteria <i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>	- 27 -
1.2. Aislamiento y determinación estructural de acinetobactina	- 28 -
1.3. Acinetobactina como base para el desarrollo de fármacos	- 32 -
2. Objetivos	- 37 -
3. Síntesis de análogos de acinetobactina	- 39 -
3.1. Síntesis de análogos desmetilados	- 39 -
3.1.1. Síntesis del análogo con un grupo metilamino en C-12 (47)	- 41 -
3.1.2. Síntesis del análogo con un grupo imidazol en C-12 (48)	- 42 -
3.1.3. Síntesis del análogo con un grupo triazol en C-12 (49)	- 44 -
3.1.4. Síntesis del análogo con un grupo triazol funcionalizado en C-12 (50)	- 47 -
3.2. Síntesis de <i>ent</i> -acinetobactina (51)	- 51 -
3.2.1. Comparación entre acinetobactina (22b) y <i>ent</i> -acinetobactina (51)	- 59 -

4. Bioensayos y relaciones estructura-actividad siderófora	- 65 -
5. Conclusiones	- 71 -

CAPÍTULO III

Síntesis total de prepiscibactina y aproximación sintética a piscibactina

1. Antecedentes	- 75 -
1.1. Bacteria <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	- 75 -
1.2. Aislamiento y caracterización estructural de piscibactina	- 76 -
1.3. Aislamiento y caracterización estructural de prepiscibactina	- 77 -
1.4. Sideróforos estructuralmente similares: síntesis de pioquelina y yersiniabactina	- 77 -
1.5. Antecedentes de las estrategias sintéticas utilizadas para la preparación de prepiscibactina y piscibactina	- 81 -
1.5.1. Introducción estereocontrolada del hidroxilo secundario en la posición 13: aplicación de la reacción de Reformatsky	- 81 -
1.5.2. Obtención de tiazolinas y tiazolidinas	- 87 -
2. Objetivos	- 99 -
3. Síntesis total de prepiscibactina	- 101 -
3.1. Síntesis del fragmento A	- 101 -
3.2. Síntesis del fragmento B	- 103 -
3.3. Condensación de los fragmentos A y B: síntesis estereocontrolada de prepiscibactina	- 112 -
3.4. Determinación estructural y comparación con el producto natural	- 115 -
3.5. Análisis configuracional de los compuestos 182a , 183a y 183b	- 119 -
3.5.1. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto 182a	- 119 -
3.5.2. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto 183a	- 122 -
3.5.3. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto 183b	- 124 -
4. Aproximación sintética a piscibactina	- 129 -
4.1. Método basado en la condensación de β -aminotioles con nitrilos	- 130 -
4.2. Método basado en la condensación de β -aminotioles con triflatos de iminio: método de Charette	- 133 -
4.3. Método basado en la ciclación de <i>N</i> -(2-mercaptoetil)amidas	- 134 -
4.4. Método basado en la ciclación de tioésteres	- 144 -
5. Conclusiones	- 149 -

CAPÍTULO IV

Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos

1. Antecedentes	- 153 -
1.1. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento "JCBA": el método de Murata	- 153 -
1.1.1. Las constantes de acoplamiento y el ángulo diedro	- 154 -
1.1.2. Fundamentos del análisis configuracional basado en J	- 156 -
1.1.3. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento de sistemas 1,2 y 1,3-disustituídos	- 158 -
1.2. Aplicación de la metodología de Murata a modelos quirales con átomos de carbono, oxígeno y nitrógeno	- 159 -
1.2.1. Aplicación de la metodología de Murata a modelos quirales con átomos de oxígeno y nitrógeno en disposición relativa 1,2,3	- 161 -
1.3. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (VT-JCBA) en sistemas flexibles	- 161 -
1.4. Medida experimental de las constantes de acoplamiento	- 163 -
2. Objetivos	- 165 -
3. Síntesis de modelos	- 167 -
3.1. Síntesis de los modelos tipo 1,2,4-O3	- 167 -
3.1.1. Síntesis de los modelos 1,2- <i>anti</i> -2,4- <i>sin</i> -O3 (236) y 1,2- <i>anti</i> -2,4- <i>anti</i> -O3 (237)	- 167 -
3.1.2. Síntesis de los modelos 1,2- <i>sin</i> -2,4- <i>sin</i> -O3 (238) y 1,2- <i>sin</i> -2,4- <i>anti</i> -O3 (239)	- 171 -
3.2. Síntesis de los modelos tipo 1,2,3-O3	- 175 -
3.2.1. Síntesis del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,3- <i>anti</i> -O3 (240)	- 175 -
3.2.2. Síntesis del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,3- <i>anti</i> -O3 (241)	- 178 -
3.3. Síntesis de los modelos tipo 1,2,3-O2N	- 179 -
3.3.1. Síntesis del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,3- <i>sin</i> -O2N (242)	- 180 -
3.3.2. Síntesis del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,3- <i>sin</i> -O2N (243)	- 183 -
4. Análisis configuracional a través de $^3J(\text{H}, \text{H})$ y $^2,3J(\text{C}, \text{H})$	- 185 -
4.1. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,4- <i>sin</i> -O3 (236)	- 185 -
4.2. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,4- <i>anti</i> -O3 (237)	- 191 -
4.3. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,4- <i>sin</i> -O3 (238)	- 197 -
4.4. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,4- <i>anti</i> -O3 (239)	- 203 -
4.5. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,3- <i>anti</i> -O3 (240)	- 209 -
4.6. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,3- <i>anti</i> -O3 (241)	- 213 -

4.7. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>anti</i> -2,3- <i>sin</i> -O2N (269)	- 218 -
4.8. Análisis configuracional del modelo 1,2- <i>sin</i> -2,3- <i>sin</i> -O2N (270)	- 222 -
5. Resolviendo sistemas No-Murata	- 227 -
5.1. Sistemas No-Murata: resolución de la configuración relativa mediante el método VT-JCBA a baja temperatura	- 228 -
5.2. Sistemas No-Murata: resolución de la configuración relativa mediante el método VT-JCBA a alta temperatura	- 231 -
6. Conclusiones	- 235 -

CAPÍTULO V

Parte Experimental

1. Metodología General	- 239 -
2. Compuestos obtenidos en el Capítulo II	- 243 -
2.1. Síntesis de los análogos de acinetobactina desmetilados (47-50)	- 243 -
2.2. Síntesis del enantiómero de acinetobactina (51)	- 264 -
2.3. Aislamiento de acinetobactina (22b)	- 279 -
3. Compuestos obtenidos en el Capítulo III	- 281 -
3.1. Síntesis de prepiscibactina (80)	- 281 -
3.2. Síntesis de los compuestos para la aproximación a piscibactina (79)	- 307 -
4. Compuestos obtenidos en el Capítulo IV	- 331 -
4.1. Síntesis de los compuestos del modelo tipo 1,2-2,4-O3 (236-239)	- 331 -
4.2. Síntesis de los compuestos del modelo tipo 1,2-2,3-O3 (240 y 241)	- 347 -
4.3. Síntesis de los compuestos del modelo tipo 1,2-2,3-O2N (269 y 270)	- 361 -

Contenido del CD-ROM

En el CD-ROM adjunto se incluye una copia de la Tesis en formato PDF y los correspondientes apéndices, que contienen:

- Apéndice 1: espectros de RMN mono y bidimensionales de todos los compuestos obtenidos a lo largo de la memoria.
- Apéndice 2: espectros de masas de baja y alta resolución de todos los compuestos obtenidos a lo largo de la memoria.

Abreviaturas y acrónimos

1D	monodimensional
2D	bidimensional
δ	desplazamiento químico en ppm (RMN)
δ_c	desplazamiento químico de ^{13}C (RMN)
δ_H	desplazamiento químico de ^1H (RMN)
λ	longitud de onda
Δ	calor
μL	microlitro
$[\alpha]_D$	rotación óptica específica
Ac	acetilo
ac	acuoso
Alloc	aliloxicarbonilo
Alloc-Cl	cloroformiato de alilo
atm	atmósfera
ATCC	<i>american type culture collection</i>
Bn	bencilo
Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
BOPCI	cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico
c	cuadruplete
$^{\circ}\text{C}$	grado Celsius
Cbz	benciloxicarbonilo
ccf	cromatografía en capa fina
CD	<i>circular dichroism</i> , dicroísmo circular
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
CM9	Medio Mínimo de Miller suplementado con casaminoácidos al 0.2%
col.	colaboradores
COSY	<i>correlation spectroscopy</i> , espectroscopía de correlación
CSA	ácido canforsulfónico
cuant.	cuantitativo (referido a rendimiento)
Cys	cisteína
d	doblete
da	doblete ancho
dc	doble cuadruplete
DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
dd	doble doblete
ddc	doble doblete de cuadrupletes
ddd	doble doblete de dobletes
ddt	doble doblete de tripletes
DEPT	<i>distorsionless enhancement by polarization transfer</i>
DFT	<i>density functional theory</i> , teoría de los funcionales de densidad
DHBA	ácido 2,3-dihidroxibenzoico

dhept	doble heptaplete
DIBAL-H	hidruro de di- <i>iso</i> -butilaluminio
DIPEA	<i>N,N</i> -di- <i>iso</i> -propiletilamina
DIPT	tartrato de di- <i>iso</i> -propilo
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMP	peryodinano de Dess-Martin
DMSO	sufóxido de dimetilo
dt	doble triplete
EDC	<i>N</i> -etil- <i>N'</i> -(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
ed	exceso diastereomérico
ee	exceso enantiomérico
eq.	equivalente
ESI	<i>electrospray ionization</i> , ionización por electrospray
Et	etilo
Exp.	experimental
FAB	<i>fast atom bombardment</i> , bombardeo de átomos pesados
Fig.	figura
g	gramos
h	hora
HECADE	<i>heteronuclear couplings from ASSCI-domain experiments with E.COSY-type cross peaks</i>
hept	heptaplete
HETLOC	<i>heteronuclear long-range coupling</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HOBt	1-hidroxibenzotriazol
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i> , cromatografía de líquidos de alta eficacia
HR	<i>high resolution</i> , alta resolución
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
Hz	hercio
imid.	imidazol
<i>i</i>Pr	<i>iso</i> -propilo
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<i>J</i>	constante de acoplamiento
JBCA	<i>J-based conformational analysis</i> , análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento o método de Murata
<i>J</i>-HMBC	<i>J-resolved heteronuclear multiple bond correlation</i>
kb	kilobase
Kps	producto de solubilidad
LR	<i>low resolution</i> , baja resolución
m	multiplete
M	concentración molar
M⁺	ión molecular

<i>m</i>-CPBA	ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico
Me	metilo
MHz	megahercio
MIC	concentración inhibitoria mínima
min	minuto
mmol	milimol
mL	mililitro
Ms	mesilo
MS	<i>mass spectrometry</i> , espectrometría de masas
<i>m/z</i>	relación masa/carga del ión
NMM	<i>N</i> -metilmorfolina
NOE	<i>nuclear overhauser effect</i> , efecto nuclear Overhauser
NOESY	espectroscopia de aumento nuclear Overhauser
Npys-Cl	cloruro de 3-nitro-2-piridinsulfonilo
<i>p</i>	para
pág.	página
Ph	fenilo
PMB	<i>p</i> -metoxibencilo
Py	piridina
PyBrop	hexafluorofosfato de bromotripirrolidino fosfonio
rd	relación de diastereoisómeros
R_f	factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN de ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece
RMN de ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
Rto.	rendimiento
s	singlete
sa	singlete ancho
sat.	saturada (referido a disolución)
Ser	serina
t	tripleto
ta	tripleto ancho
t.a.	temperatura ambiente
TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
TBDMSCI	cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
TBDPS	<i>tert</i> -butildifenilsililo
TBDPSCI	cloruro de <i>tert</i> -butildifenilsililo
TBTU	tetrafluoroborato de <i>N,N,N',N'</i> -tetrametil- <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)-uronio
td	triple doblete
Tf	trifluorometano sulfonilo
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anhídrido trifluoroacético

THF	tetrahidrofurano
Thr	treonina
TMS	tetrametilsilano
TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>
t_R	tiempo de retención
Trt	tritilo
TrtCl	cloruro de tritilo
tt	triple triplete
UDB	<i>universal data base</i> , base de datos universal
UV	ultravioleta
VT-JCBA	análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable
W_{1/2}	<i>width</i> 1/2 (la mitad de la anchura del pico en Hz)

Capítulo I

Introducción

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1. Importancia de la acuicultura

En un mundo en el que más de 800 millones de personas siguen padeciendo malnutrición crónica, se destaca el importante papel que la pesca y la acuicultura desempeñan en la eliminación del hambre, el fomento de la salud y la reducción de la pobreza. Es reconocida la importancia del consumo de pescado debido a su alto valor nutricional gracias a que es una fuente vital de proteínas y nutrientes esenciales, suministrando los aminoácidos esenciales para los seres humanos, además de aportar vitaminas, minerales y ácidos grasos omega 3 y omega 6, estos últimos útiles para la prevención de enfermedades cardiovasculares.

Debido a los beneficios mencionados, la pesca extractiva y la acuicultura son consideradas industrias muy importantes a nivel mundial, ya que son una fuente no sólo de salud, sino también de riqueza; el sector da empleo a decenas de millones de personas y es la base de los medios de vida de cientos de millones más.

La producción pesquera mundial ha aumentado de forma constante en las últimas cinco décadas y el consumo mundial de pescado *per capita* aumentó de un promedio de 9.9 kg en la década de los 60 a 19.2 kg en 2012. Nunca antes se había consumido tanto pescado ni se había dependido tanto del sector para alcanzar una situación de bienestar.

Según las últimas estadísticas sobre pesca y acuicultura disponibles recopiladas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) a nivel mundial,¹ la producción acuícola mundial alcanzó otro máximo histórico de 158 millones de toneladas en el año 2012, de las cuales 136 millones fueron usadas para consumo humano. De este total, 91 millones de toneladas de pescado fueron obtenidas mediante pesca de captura, cifra que se ha mantenido estable durante la última década (siendo incluso inferior al año 2011), y cerca de 70 millones de toneladas provino de la acuicultura, cifra que representa un máximo histórico (Figura 1).

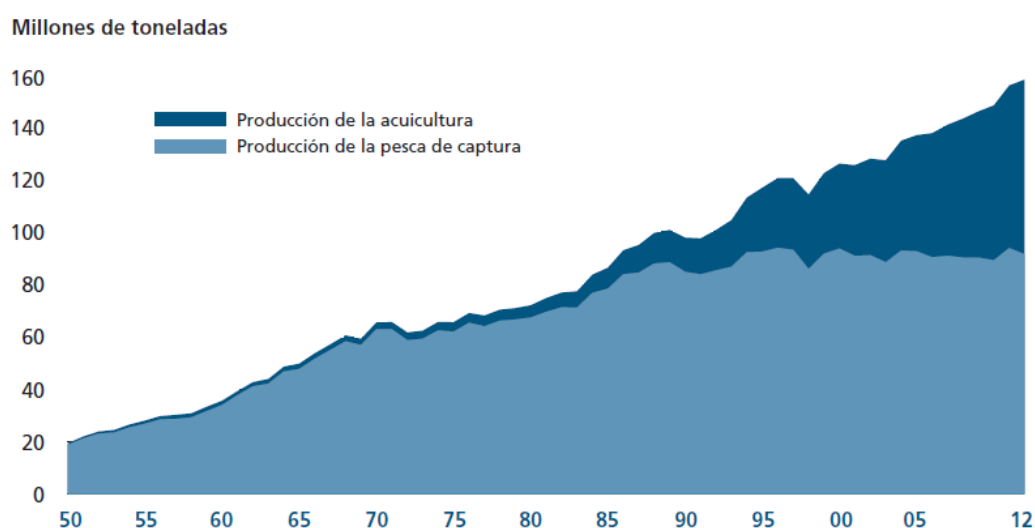


Figura 1. Producción mundial de la pesca extractiva y acuicultura.²

Se espera que la acuicultura supere a la pesca de captura en los próximos años debido al crecimiento que ha presentado, ya que en la década de 1950 sólo se producía mediante esta técnica 1 millón de toneladas anuales, cifra que hoy en día se ha multiplicado por 60. Por el contrario, no se observa este rápido crecimiento en otros sectores de producción animal, convirtiéndose en el sector de más rápido crecimiento en la producción de alimentos y en la única salida para mantener los productos del mar dentro de la dieta cotidiana ante el estancamiento de la pesca extractiva.

A pesar de que España mostró una reducción en la producción pesquera en la última década, todavía sigue siendo, junto con China, uno de los importadores y exportadores más importantes de pescado (Figura 2).³ Gracias a sus condiciones naturales y especialmente a sus rías, Galicia domina el mercado español con un 96.5%

¹ “El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014”. Departamento de pesca y acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, **2014**.

² Gráfico extraído de “El estado mundial de la pesca y la acuicultura **2014**”, ver referencia 1.

³ “El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010.” Departamento de pesca y acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma **2010**.

de la producción. En el año 2002, la acuicultura gallega alcanzó una producción superior a las 267.000 toneladas, siendo uno de los principales suministradores de los mercados europeos.

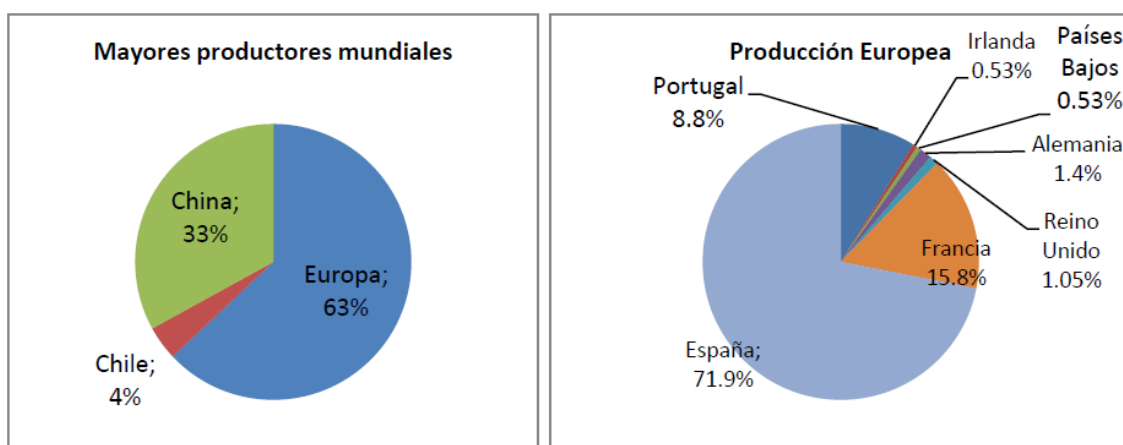


Figura 2. Distribución de la producción de peces de acuicultura.

A pesar de su crecimiento e importancia, es necesario seguir investigando para diseñar sistemas de acuicultura óptimos en términos de productividad y salubridad de los peces. Para esto se tiene que solucionar uno de los mayores problemas que está limitando su desarrollo a nivel mundial, el relacionado con las enfermedades causadas por agentes biológicos y no biológicos.

Entre los agentes biológicos, las enfermedades infecciosas originadas por diversas bacterias patógenas constituyen una de las causas más importantes de las cuantiosas pérdidas económicas anuales, debido a los efectos devastadores que tienen sobre las granjas afectadas. Por esta razón, en los programas de investigación de diferentes instituciones, tanto nacionales como europeas, se considera una línea prioritaria la búsqueda de nuevos tratamientos contra dichas bacterias.⁴

2. Principales enfermedades de peces causadas por bacterias en sistemas de acuicultura

Existen varias bacterias patógenas de peces, pero sólo algunas representan un verdadero problema a nivel mundial. Entre las enfermedades infecciosas más dañinas y que originan mayores pérdidas económicas para la acuicultura causadas por bacterias Gram-negativas se encuentran la yersiniosis, la vibriosis, la pasteurelosis y la forunculosis.

⁴ Reto 1 del programa Ris3 de la Xunta de Galicia.

2.1. Yersiniosis

Conocida también como “enfermedad de la boca roja”, la yersiniosis es una afección producida por la bacteria *Yersinia ruckeri* que afecta a distintas variedades de peces, principalmente a salmónidos, siendo las truchas arcoíris más susceptibles a padecerla.⁵

La bacteria *Yersinia ruckeri* se aisló por primera vez en los Estados Unidos en la década de los 50 de ejemplares enfermos de la trucha arcoíris, y desde entonces se ha ido diagnosticando en otros territorios como todo Norte América, Australia, Europa y Sudáfrica. Aunque la enfermedad afecta a peces de cualquier edad, se observa un aumento de la mortalidad en salmónidos juveniles.

Los síntomas mostrados no son específicos. Se suele observar un cambio en el comportamiento de los peces como nadar cerca de la superficie, movimientos lentos o falta de apetito. Las hemorragias también son comunes, y éstas suelen producirse alrededor de la cavidad bucal, en la superficie del cuerpo y en los órganos internos (Figura 3).



Figura 3. Peces con síntomas típicos de yersiniosis producida por *Yersinia ruckeri*: hemorragia en la zona ocular y enrojecimiento de la boca (Foto J. L. Romalde).

Para tratar esta enfermedad se han desarrollado diversos antibióticos, inmunoestimulantes, probióticos y vacunas, aunque lo que resulta más eficaz son las medidas preventivas, como evitar portadores y mantener unas altas condiciones de higiene.⁵

2.2. Vibriosis

Vibrio anguillarum es una de las bacterias patógenas causante de la vibriosis, una enfermedad que produce una septicemia hemorrágica fatal. Esta afección, que presenta una amplia distribución geográfica, afecta a especies tanto de agua dulce como salada, como el salmón del Pacífico y del Atlántico, el rodaballo o la lubina.⁶ Aunque esta bacteria tiene más de 20 serotipos conocidos, sólo dos de ellos: el O1 y el O2, y en menor medida el O3, son los principales implicados en provocar la infección.⁷

⁵ Tobback, E.; Decostere, A.; Hermans, K.; Haesebrouck, F.; Chiers, K. *J. Fish. Dis.* **2007**, *30*, 257-268.

⁶ Balado, M.; Osorio, C. R.; Lemos, M. L. *Microbiology* **2006**, *152*, 3517-3528.

⁷ Conchas, R. F.; Lemos, M. L.; Barja, J. L.; Toranzo, A. E. *Appl. Environ. Microbiol.* **1991**, *57*, 2956-2962.

La vibriosis puede presentarse de forma aguda o crónica, mostrando signos típicos de una septicemia generalizada. Los síntomas más usuales son lesiones en la piel, úlceras, inflamación, necrosis hemorrágica en tejido muscular, hemorragia en la base de las aletas, opacidad de las córneas y oscurecimiento de la piel (Figura 4). Los peces moribundos presentan frecuentemente las branquias muy pálidas, lo que refleja una anemia severa.⁸



Figura 4. Alevín de rodaballo mostrando típicas hemorragias producidas por *Vibrio anguillarum* (Foto J. L. Romalde).

El tratamiento estandarizado se realiza a base de antibióticos como oxitetraciclina, nitrofurantoina y sulfasoxazol, sin embargo no son muy eficientes debido a la existencia de cepas resistentes a estos compuestos y a que los peces enfermos presentan anorexia y no consumen el antibiótico que se suministra. También existe un gran número de vacunas comerciales para prevenir la enfermedad, pero la mayoría sólo incluyen el serotipo O1.⁹

2.3. Forunculosis

Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida* es el patógeno bacteriano causante de la forunculosis en peces, una enfermedad que causa pérdidas devastadoras en cultivos de salmónidos tanto de agua dulce como salada.¹⁰ Afecta también a una gran variedad de peces no-salmónidos y en este momento es la patología de mayor incidencia en el cultivo del rodaballo en Galicia.

Esta enfermedad, que fue diagnosticada por primera vez en Galicia en 1992 en rodaballo cultivado en jaulas flotantes localizadas cerca de cultivos de salmónidos, empezó a ser un factor limitante para el sector a partir de 1999, debido a la alta mortalidad que causa y a la rápida resistencia que desarrolla a los antibióticos. Desde entonces provoca grandes pérdidas económicas en la acuicultura mundial, debido a su amplia distribución geográfica y a la diversidad de peces que resultan infectados (trucha, salmónidos, rodaballo, dorada, etc.).

No tiene una época específica de aparición, sin embargo está asociada a algunos factores fisiológicos como la presencia de lesiones que se convierten en posibles entradas de la bacteria, y a factores ambientales como las altas temperaturas y baja concentración de oxígeno.

⁸ Toranzo, A. E.; Magariños, B.; Romalde, J. L. *Aquaculture* **2005**, 246, 37-61.

⁹ Toranzo, A. E.; Barja, J. L. *Dis. Aquat. Org.* **1990**, 9, 73-82.

¹⁰ Johansen, L. H.; Jensen, I.; Mikkelsen, H. Bøjr, P. A.; Jansen, P. A.; Bergh, Ø. *Aquaculture* **2011**, 315, 167-186.

La forunculosis se presenta como una septicemia hemorrágica que puede ser aguda o crónica. En las infecciones agudas suelen aparecer lesiones ulcerosas profundas (Figura 5), causadas por forúnculos en la piel que pueden llegar a afectar el tejido muscular. Estos forúnculos pueden romperse liberando bacterias al agua circundante y dejando una herida expuesta que puede ser afectada por otras bacterias y causar nuevas infecciones.



Figura 5. Ulceración característica de infecciones por *Aeromonas salmonicida* en truchas (Foto M. Godoy).

Para tratar esta enfermedad, desde 1980 se han desarrollado y comercializado numerosas vacunas a base de células inactivadas denominadas bacterinas, que se pueden suministrar por inyección, inmersión o vía oral, aunque su eficacia ha sido muy cuestionada por la falta de resultados repetitivos y/o su corto período de protección. Los mejores resultados se obtienen con los salmónidos, donde se observan largos períodos de protección, pero lamentablemente ocurre lo contrario con el rodaballo. Actualmente, se están investigando nuevas vacunas y estrategias de inmunización para lograr una protección a largo plazo del rodaballo contra la forunculosis.⁸

2.4. Pasteurelosis

La bacteria *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, previamente conocida como *Pasteurella piscicida*, fue aislada por primera vez en 1963 de perca blanca (*Morone americanus*) y lubina rayada (*Morone saxatilis*) en la bahía de Chesapeake, entre los estados de Virginia y Maryland (EEUU).¹¹ La enfermedad causada por esta bacteria fue denominada inicialmente pasteurelosis y más tarde, debido al cambio en la clasificación taxonómica de la bacteria, adquirió una nueva denominación: fotobacteriosis. También se conoce como pseudotuberculosis, ya que produce unos nódulos blancos en las vísceras internas de los peces infectados.

Desde que en 1991 se empezó a detectar en alevines de dorada (*Sparus aurata*) en la región noreste de España, esta enfermedad se ha convertido en la mayor patología de lubinas y doradas de los países mediterráneos.¹² En la actualidad *P. damsela* subsp. *piscicida* también es considerada como uno de los patógenos bacterianos más devastadores en acuicultura marina a causa de factores ya mencionados: amplia

¹¹ Snieszko, S. F.; Bullock, G. L.; Hollis, E.; Boone, J. G. *J. Bacteriol.* **1964**, 88, 1814-1815.

¹² Toranzo, A. E.; Barreiro, S.; Casal, J. F.; Figueras, A.; Magariños, B.; Barja, J. L. *Aquaculture* **1991**, 99, 1-15.

distribución geográfica, gran diversidad de especies que puede infectar y elevada mortalidad.¹³

Los síntomas que se presentan son poco visibles ya que generalmente no se producen lesiones superficiales, sólo en raras ocasiones se puede observar un oscurecimiento del color del cuerpo o hemorragias en la base de las aletas. Los cambios patológicos internos suelen provocar agrandamiento del hígado y riñón o formación de nódulos blancos en órganos internos. Estos nódulos están formados por bacterias que al romperse diseminan las bacterias por el organismo produciendo una septicemia hemorrágica (Figura 6).¹⁴



Figura 6. Alevines de dorada mostrando: (a) lesiones macroscópicas externas y (b) típicos nódulos blancos en el riñón, producidos por *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*.

Para su tratamiento se suministran diversos antibióticos como penicilina o ácido oxolínico, pero a consecuencia del uso indiscriminado aparecen cepas resistentes a los mismos, resultando ineficaces. Para controlar la infección lo que mejor resulta es la administración de sueros y vacunas para prevenir la aparición de ésta.¹³

3. El papel del hierro en el desarrollo bacteriano

Durante los procesos infecciosos, la virulencia e incluso la supervivencia de la mayoría de la bacterias depende de su capacidad para competir eficazmente por los nutrientes clave con el organismo infectado. El hierro es un micronutriente esencial ya que participa en reacciones enzimáticas fundamentales, siendo especialmente importante su papel fisiológico en la química redox celular. Su habilidad para coordinar y activar oxígeno y la posesión de un par redox reversible, Fe(II)/Fe(III), lo convierte en el más adecuado tanto para catalizar un amplio espectro de reacciones redox como para mediar en procesos de transferencia de electrones.¹⁵

Sin embargo, a pesar de su abundancia en la tierra, la disponibilidad del hierro es limitada, ya que a pH fisiológico el hierro se encuentra como Fe(III), que es muy poco soluble ($K_{ps} = 10^{-39}$) y por lo tanto no se encuentra disponible para ser aprovechado por

¹³ Liu, P-C.; Hung, S-W.; Chen, M-H.; Cheng, C-F.; Lin, C-C.; Chang, C-H.; Lin, S-L.; Tu, C-Y.; Lin Y-H.; Shyan, W. A. J. *Microbiol. Res.* **2011**, 5, 2107-2113.

¹⁴ Magariños, B.; Toranzo, A. E.; Romalde, J. L. *Ann. Rev. Fish. Dis.* **1996**, 6, 41-64.

¹⁵ (a) Ratledge, C.; Dover, G. L. *Annu. Rev. Microbiol.* **2000**, 54, 881-941. (b) Kornereich-Leshem, H.; Ziv, C.; Gumienna-Kontecka, E.; Arad-Yellin, R. C.; Chen, Y.; Elhabiri, M.; Albrecht-Gary, A.; Hadar, Y.; Shanzer, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 1137-1145.

estos microorganismos. Además, durante la infección la mayoría de las bacterias se encuentran con un entorno pobre en hierro —normalmente el nivel de hierro libre en fluidos biológicos es del orden de 10^{-18} — que se conoce como “inmunidad nutricional”. Por lo que la capacidad de obtención del hierro a partir del hospedador es uno de los mecanismos de virulencia más importante de los patógenos bacterianos.¹⁶

Para superar esta extrema indisponibilidad del Fe(III), las bacterias han diseñado varios mecanismos para conseguirlo del entorno, como su obtención a partir de glicoproteínas y hemoproteínas, la adquisición en forma de Fe(II) que es más soluble que el Fe(III), o la producción de unos agentes que “secuestran” el Fe(III) llamados sideróforos.¹⁷

4. Los sideróforos

Los sideróforos son unos compuestos de bajo peso molecular (aproximadamente de 300 a 2000 Da), biosintetizados y excretados por muchos microorganismos, que se caracterizan por ser unos agentes quelantes selectivos de iones férricos. Estas moléculas, que se producen en el citoplasma, generalmente son excretadas al medio extracelular y allí son capaces de quelatar fuertemente Fe(III) de tal forma que facilitan su solubilidad e introducción en la célula.

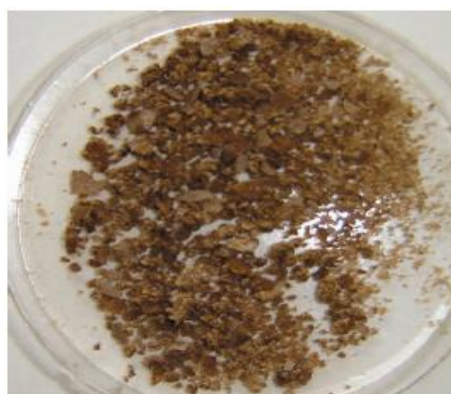


Figura 7. Cristales de sideróforos obtenidos de un extracto de cultivo.

En las bacterias Gram-negativas, unos receptores situados en la membrana externa celular son los encargados de reconocer y transportar activamente este complejo sideróforo-Fe(III) dentro del periplasma (Figura 8). Aquí son reconocidos y unidos a sistemas de transporte de la membrana citoplasmática para avanzar hacia el citoplasma por translocación.¹⁸ Una vez que está en el interior de la célula, el hierro es desquelatado principalmente mediante dos mecanismos. El modo más frecuente para liberar el hierro de un sideróforo implica un proceso redox mediante una reductasa, ya que la afinidad del sideróforo por el Fe(II) es muchísimo inferior a la del Fe(III). El otro mecanismo supone la hidrólisis del complejo sideróforo-Fe(III), lo que necesita enzimas específicos. Una vez liberado, el sideróforo es degradado o segregado mediante un transporte activo.¹⁹

¹⁶ Wandersman, C.; Delepelaire, P. *Annu. Rev. Microbiol.* **2004**, *58*, 611-647.

¹⁷ Lankford, C. E. *Crit. Rev. Microbiol.* **1973**, *2*, 273-331.

¹⁸ (a) Crosa, J. H.; Walsh, C. T. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2002**, *66*, 223-249. (b) Crosa, J. H.; Mey, A. R.; Payne, S. M. *Iron transport in bacteria*. 1ª ed. Washington, DC (USA), **2004**. 495 p.

¹⁹ Górski, A.; Sloderbach, A.; Marszall, M. A. *Trends Pharmacol. Sci.* **2014**, *35*, 442-449.

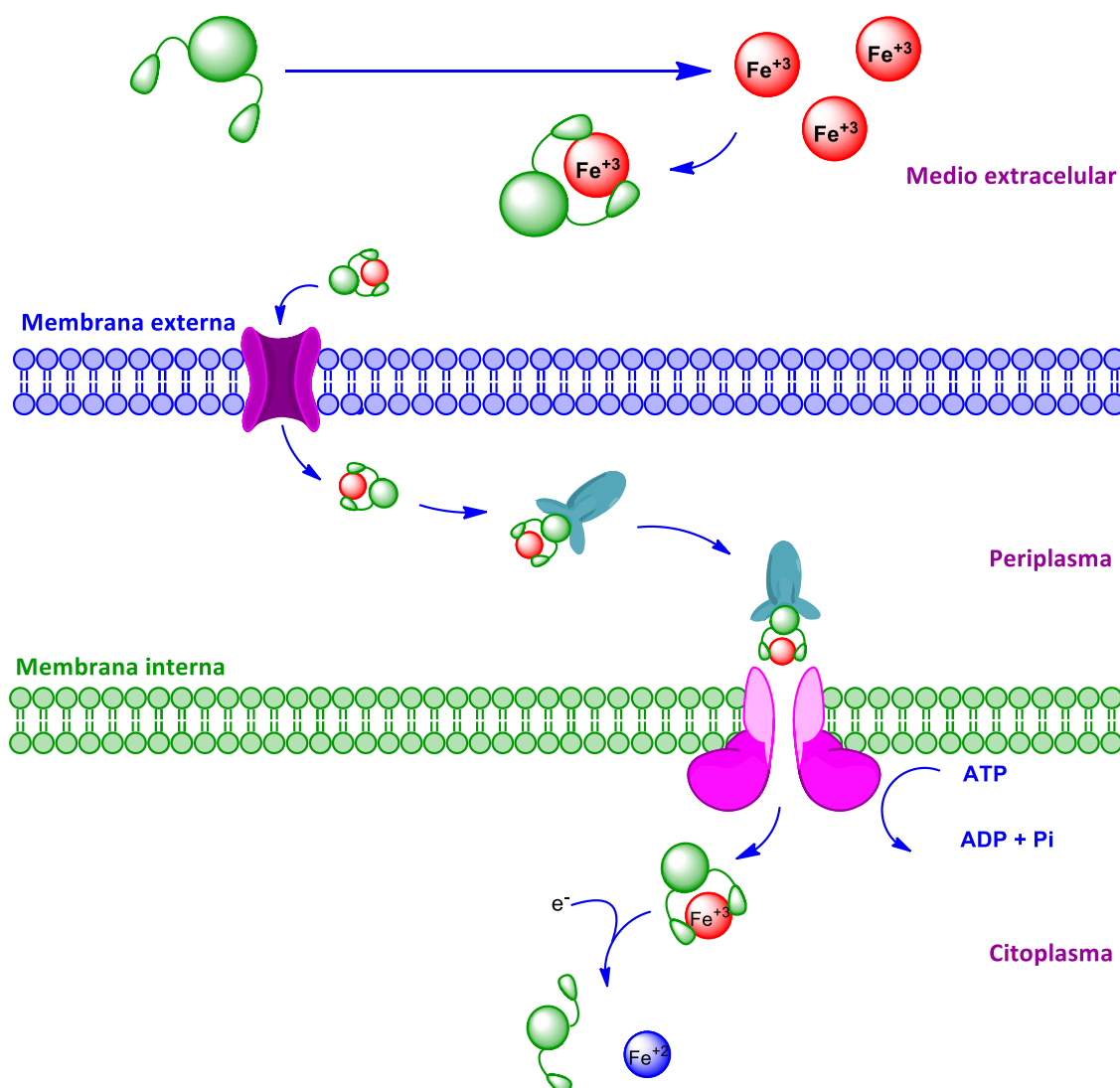


Figura 8. Mecanismo de introducción de Fe(III) en bacterias Gram-negativas mediante sideróforos.

En el caso de las bacterias Gram-positivas, al carecer de membrana externa y de una zona periplasmática, sólo tienen un sistema de transporte activo del complejo sideróforo-Fe(III) dentro del citoplasma.

Normalmente no son muy selectivos y muchas bacterias y hongos son capaces de utilizar sideróforos ajenos, es decir, producidos por otros microorganismos. Por otra parte, estudios recientes han demostrado que las bacterias no sólo los usan para la adquisición de hierro, sino también para protegerse a sí mismas contra la toxicidad de los metales pesados; los sideróforos “secuestran” estos metales fuera de la bacteria ya que no son reconocidos, impidiendo así la entrada por difusión en la célula.²⁰

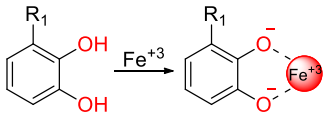
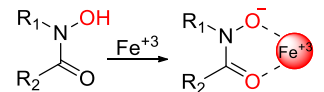
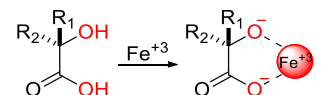
²⁰ (a) Braud, A.; Geoffroy, V.; Hoegy, F.; Mislin, G. L. A.; Schalk, I. J. *Environ. Microbiol. Rep.* **2010**, 2, 419-425. (b) Schalk, I. J.; Hannauer, M.; Braud, A. *Environ. Microbiol.* **2011**, 13, 2844-2854.

4.1. Tipos de sideróforos

Las propiedades químicas de las formas iónicas del hierro han dictado el diseño evolutivo de los sideróforos. La geometría que generalmente adoptan los complejos sideróforo-Fe(III) es la octaédrica, lo que permite una orientación adecuada de seis ligandos alrededor del núcleo de hierro, minimizando las repulsiones entre ellos.²¹ El ión férrico de alto espín y entorno octaédrico se quelata de forma más eficaz con tres ligandos bidentados con átomos de oxígeno dadores. En muchos casos, estos tres ligandos bidentados están incorporados en una sola estructura, como es el caso de enterobactina, agrobactina, ferricromo, ferroxamina, micobactina y pseudobactina, entre otros. Aunque tienden a usar oxígenos cargados como átomos dadores, en algunos casos pueden incluir también azufre o nitrógeno, disminuyendo la presencia de estos átomos la afinidad sideróforo-Fe(III).

Presentan una gran variedad de estructuras químicas y actualmente forman una familia de más de 500 compuestos diferentes producidos por bacterias, hongos y plantas. Dependiendo de la naturaleza química de los ligandos, se pueden clasificar en tres grandes grupos: catecolatos/fenolatos, hidroxamatos y α -hidroxicarboxilatos (Tabla 1), presentando cada uno de ellos una alta afinidad por el hierro.²²

Tabla 1. Tipos de sideróforo más comunes según el ligando.

Tipo de sideróforo	pK _{a1}	pK _{a2}	Estructura y complejo con Fe(III)
Catecolato	9.2	13.0	
Hidroxamato	9.0	—	
α -Hidroxicarboxilato	3.0	14.5	

La evolución ha seleccionado estos grupos por su alta afinidad por los “duros” iones férricos, según la teoría de ácidos y bases de Pearson.

Los sideróforos tipo fenolato/catecolato proceden generalmente del ácido salicílico y del ácido 2,3-dihidroxibenzoico, respectivamente. Poseen una elevada afinidad por el Fe(III) debido a la alta densidad de carga electrónica de los grupos

²¹ (a) Hider, R. C.; Kong, X. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 637-657. (b) Sandy, M.; Butler, A. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 4580-4595.

²² Miethke, M.; Marahiel, M. A. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2007**, 71, 413-451.

hidroxilo fenólicos —cuanto mayor sea la carga en el oxígeno, más intensa será la interacción.— En el caso del grupo catecolato, al poseer dos átomos dadores de oxígeno en *orto*, la afinidad por el Fe(III) es muy elevada. Enterobactina (**1**, Figura 9), producida por enterobacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella*, es uno de los que presenta más capacidad de quelación con Fe(III) y es el representante más importante de los sideróforos tipo catecolato, concretamente es un triscatecolato que está formado por tres unidades de ácido 2,3-dihidroxibenzoico/serina (**2**, Figura 9).

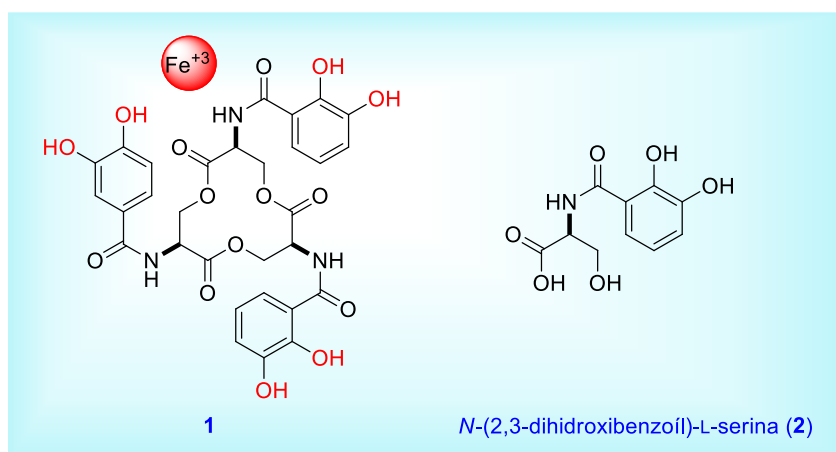


Figura 9. Estructura de enterobactina (**1**) y monómero que la forma (**2**).

En cuanto a los sideróforos tipo hidroxamato, su afinidad por el Fe(III) se debe a la deslocalización de la carga presente en sus formas resonantes. El ferricromo (**3**) es un ejemplo de este tipo de compuestos. Por otro lado, los del tipo α -hidroxicarboxilato se caracterizan por tener como grupo quelante un α -hidroxiácido que generalmente deriva del ácido cítrico. Ejemplos de estos compuestos son el avenato (**4**), usado por varias especies de plantas, o el ácido cítrico (**5**), usado por una gran variedad de bacterias (Figura 10).

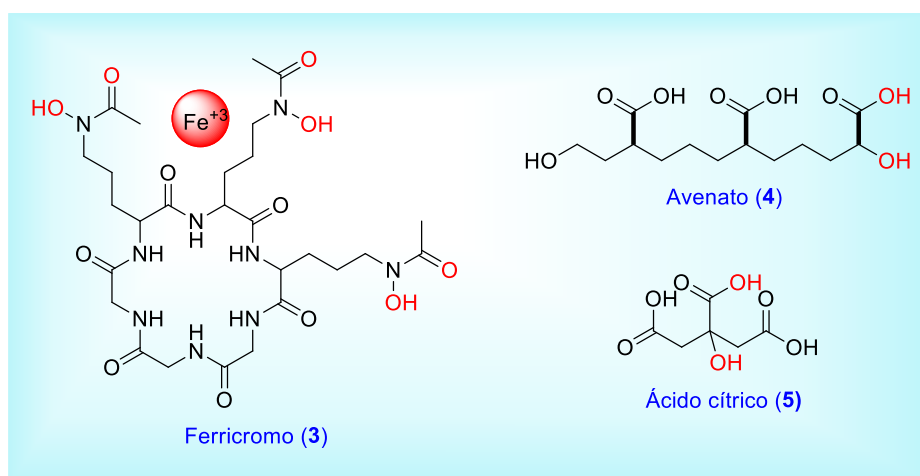
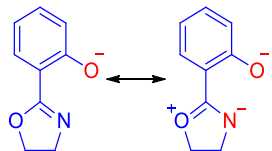
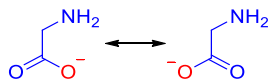
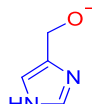


Figura 10. Ejemplos de sideróforos hidroxamato (**3**) y α -hidroxicarboxilato (**4** y **5**).

Aunque la mayoría de los microorganismos utilizan catecolatos/fenolatos, hidroxamatos o α -hidroxicarboxilatos como sus componentes para la coordinación al metal, existen otros ligandos bidentados menos frecuentes, como es el caso de la hidroxifeniloxazolona, el α -aminocarboxilato y el α -hidroxiimidazol (Tabla 2).

Tabla 2. Sideróforos menos comunes según el ligando.

Tipo de sideróforo	pK _{a1}	pK _{a2}	Estructura
Hidroxifeniloxazolona	9.0	—	
α -Aminocarboxilato	2.5	9.5	
α -Hidroxiimidazol	6.0	14.5	

Además de los ya mencionados, también se puede hablar de los sideróforos mixtos, los cuales se caracterizan por tener más de un tipo de ligando en su estructura. Un ejemplo es pseudobactina (6, Figura 11) producida por *Pseudomonas B10*,²³ que incorpora los grupos catecolato, hidroxamato y α -hidroxicarboxilato en su estructura.

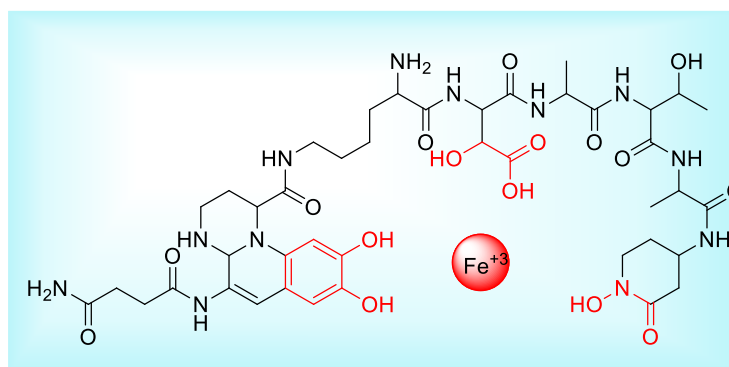


Figura 11. Estructura de pseudobactina (6).

4.2. Aplicaciones terapéuticas de los sideróforos

El estudio de los sideróforos y de sus procesos de transporte ha revelado una valiosa información acerca del metabolismo del hierro, lo que ha llevado a un uso

²³ Teintze, M.; Leong, J. *Biochemistry* **1981**, 20, 6457-6462.

terapéutico de ellos y de sus derivados.²⁴ Una importante aplicación clínica incluye el tratamiento de diversas enfermedades, principalmente las provocadas por exceso de hierro. Pero la aplicación más importante, está relacionada con el desarrollo de nuevos antimicrobianos más efectivos.

4.2.1. Sideróforos en el tratamiento de enfermedades

Algunos sideróforos son utilizados en el tratamiento de enfermedades provocadas por exceso de hierro asociadas a transfusiones sucesivas de sangre. Aprovechando su afinidad por el hierro, se utiliza desferrioxamina B (Desferal®) —aislado en 1960 de *Streptomyces pilosus* (7, Figura 12)— para el tratamiento de intoxicaciones de hierro agudas y crónicas.²⁵

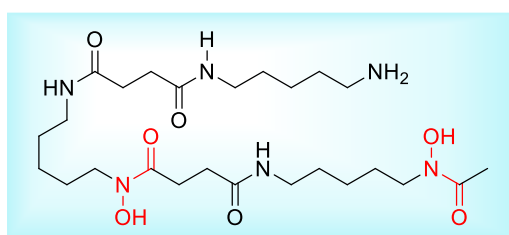


Figura 12. Estructura de desferrioxamina B (7).

La desferrioxamina quelata cationes Fe(III) libres y forma ferrioxamina, que es soluble en agua y por tanto puede ser eliminada por los riñones. Algunas de las enfermedades causadas por exceso de hierro en el organismo que son tratadas con Desferal® son:

- Talasemia: es un tipo de anemia hereditaria en la que existe una disminución en la síntesis de hemoglobina. Necesita múltiples transfusiones de sangre causando exceso de hierro.
- Anemia sideroblástica: es un trastorno genético en el que la médula ósea produce sideroblastos anillados en vez de glóbulos rojos sanos. También requiere continuas transfusiones.
- Hemocromatosis: es un desorden en el que se produce un progresivo incremento de hierro en el organismo causando deposiciones en el hígado, corazón o páncreas.

También se utiliza Desferal® en el tratamiento de otro tipo de afecciones (malaria, hematoma retrobulbar, isquemia de los músculos esqueléticos, neuroblastomas...) y en

²⁴ Carvalho, C.; Marques, M.; Fernandes, P. *Recent Pat. Biotechnol.* **2011**, 5, 183-198.

²⁵ Nagoba, B.; Vedpathak, D. *Eur. J. Gen. Med.* **2011**, 8, 229-235.

la eliminación de elementos transuránicos como aluminio y vanadio en casos de contaminaciones de trabajadores en reactores nucleares.

A pesar de su eficacia, el uso de este fármaco en el tratamiento de enfermedades presenta efectos secundarios debido a que algunos patógenos pueden utilizarlo como quelante de hierro, produciendo infecciones.

4.2.2. Sideróforos en el desarrollo de nuevos antimicrobianos

El incremento en la aparición de cepas multirresistentes a los antibióticos ha llevado a la necesidad de buscar nuevos antimicrobianos que sean más eficientes para tratar estas infecciones emergentes. Debido a que el hierro es indispensable para que los microorganismos puedan multiplicarse dentro del organismo infectado, constituye uno de los principales factores de virulencia en los patógenos bacterianos. De este modo, el estudio de los sistemas de captación de este metal permite desarrollar alternativas para producir nuevos antibacterianos y vacunas para el tratamiento de enfermedades producidas por estos microorganismos.²⁶

Las tres principales estrategias de desarrollo antimicrobianos basados en los mecanismos de captación de hierro son: —inhibición de la biosíntesis de sideróforos, —inducción de un déficit artificial de hierro usando sideróforos o antagonistas que no puedan ser utilizados como fuentes de este elemento, —aplicación de la estrategia “caballo de Troya”, en la que se ayuda a los antibióticos a entrar en la célula.

A) Inhibición de la biosíntesis de sideróforos

El mecanismo de la biosíntesis de sideróforos ha sido ampliamente estudiado.¹⁹ Estos estudios han permitido el desarrollo de estrategias basadas en inhibidores de su biosíntesis que suponen el diseño de nuevos antimicrobianos. De esta forma, se utilizan unas pequeñas moléculas que inhiben las primeras etapas de la biosíntesis, impidiendo el crecimiento bacteriano y la virulencia en medios con déficit de hierro.

El estudio más profundo es el realizado con el intermediario no hidrolizable salicil-AMS (**9**, Figura 13), un potente inhibidor de las primeras etapas de la biosíntesis de los sideróforos yersiniabactina, producida por *Yersinia pestis* y micobactina, producida por *Mycobacterium tuberculosis*, bacterias patógenas causantes de la peste negra y la tuberculosis, respectivamente.²⁷

²⁶ Weinberg, E. D. *Microbiol. Rev.* **1978**, *42*, 45-66.

²⁷ (a) Ferreras, J. A.; Ryu, J. S.; Di Lello, F.; Tan, D. S.; Quadri, L. E. *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 29-32. (b) Lamb, A. L. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1854*, 1054-1070. (c) Dawadi, S.; Viswanathan, K.; Boshoff, H. I.; Barry, C. E.; Aldrich, C. C. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4835-4850.

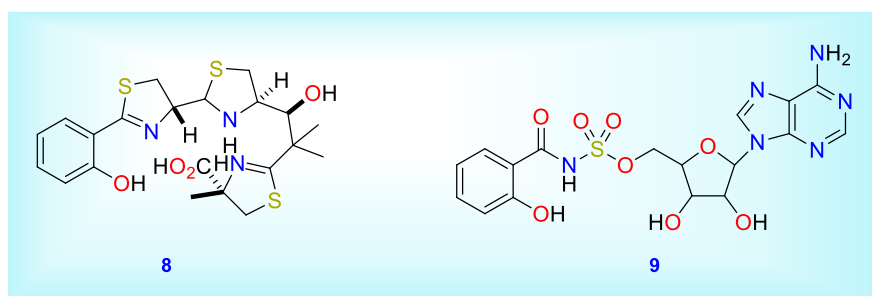


Figura 13. Estructura del sideróforo yersiniabactina (**8**), producida por *Y. pestis* y del inhibidor salicil-AMS (**9**).

B) Inducción de un déficit artificial de hierro usando antagonistas

El empleo de análogos sintéticos que actúan como antagonistas, se basa en su reconocimiento molecular por la bacteria y su posterior unión irreversible al receptor bloqueándolo, lo que limita significativamente el crecimiento microbiano. Es el caso de micobactina S (**10**), análogo sintético —con configuración opuesta en el carbono marcado en la Figura 14— del sideróforo natural micobactina T (**11**), que inhibe en más de un 99% el crecimiento de *M. tuberculosis*.²⁸

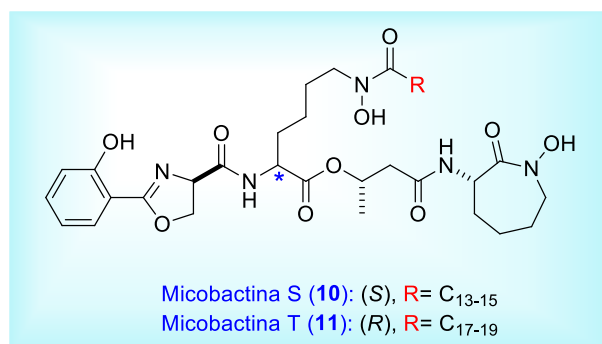


Figura 14.

C) Aplicación de la estrategia del "caballo de Troya": sideromicinas

Las sideromicinas, descubiertas simultáneamente con los sideróforos tipo hidroxamato en 1960, son antibióticos unidos de forma covalente a sideróforos. Estos conjugados representan un subconjunto único de antibióticos naturales que entran en las células bacterianas mediante una estrategia tipo "caballo de Troya". Como son captados e introducidos en la bacteria a través de los mecanismos de captación y almacenamiento de hierro, su efectividad puede aumentar hasta 100 veces más en relación al mismo antibiótico sin estar conjugado con el sideróforo.

²⁸ Hu, J.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3462-3468.

Las albomicinas $\delta 1$ - $\delta 3$ (**12-14**), la ferrimicina A1 (**15**) y las salmicinas A-D (**16-19**) son ejemplos muy claros del uso de un sistema transportador de hierro para introducir una sustancia tóxica en un microorganismo (Figura 15).

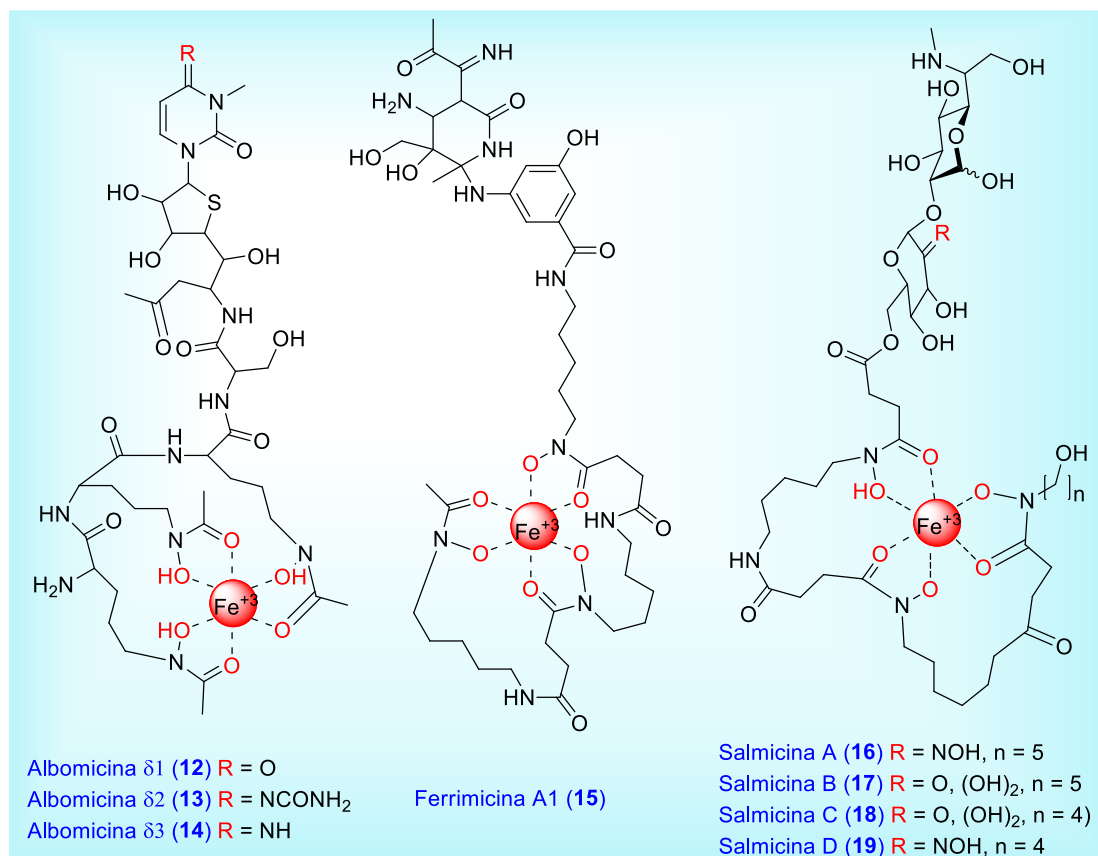


Figura 15. Estructuras de sideromicinas.

Las albomicinas **12-14**, producidas por *Actinomyces subtropicus*, están formadas por un péptido tris(*N*-acetil, *N*-hidroxiornitina) unido por un puente de serina a un análogo de un nucleósido; el puente se hidroliza en el citoplasma liberando el nucleósido para que pueda ejercer su actividad antibacteriana. Inhiben el crecimiento tanto de bacterias Gram-positivas como Gram-negativas. La ferrimicina A1 (**15**), producida por *Streptomyces griseoflavus*, presenta acción antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas tales como *Bacillus* spp. y *Staphylococcus aureus*. Está compuesta por ferrioxamina B, que le confiere actividad siderófora, y por otra subestructura que posee actividad antibiótica. Las salmicinas **16-19**, producidas por *Streptomyces violaceus*, se componen de un trishidroxamato (el sideróforo) y una parte de un aminoglicósido (el antibiótico). Inhiben el crecimiento de bacterias Gram-positivas. Todas estas sideromicinas usan sideróforos tipo hidroxamato y su actividad es inversamente proporcional a la concentración de hierro en el medio donde se albergan las bacterias.²⁹

²⁹ Page, M. G. P. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2013**, 115-126.

Tomando como modelo estos antibióticos naturales, en la década de los 80 se empezó a desarrollar una estrategia en la que sideróforos naturales o análogos sintéticos se utilizan como agentes de suministro de fármacos con el fin de acelerar la absorción de los antibióticos en bacterias Gram-negativas.³⁰ La baja permeabilidad de su membrana externa hace disminuir la absorción de los antibióticos, y con estos conjugados artificiales sideróforo-fármaco se consigue atravesar la barrera de la membrana exterior de la célula bacteriana y aumentar en gran medida la efectividad de los antibióticos conocidos.

La estrategia del “caballo de Troya”, que ha demostrado ser una de las terapias más efectivas en el desarrollo de nuevos antimicrobianos, consiste en la preparación de aductos o conjugados entre un compuesto que tenga actividad siderófora y un antibiótico conocido. La clave consiste en que el sideróforo actúa como vector, cuando el patógeno “secuestra” el complejo de hierro también introduce el antibiótico. El conjugado consta de tres componentes: hierro/ligando (sideróforo), espaciador y fármaco (Figura 16). El papel del sideróforo es quelatar el hierro, mientras que la función del espaciador es, por una parte poder enlazar ambos componentes y, por otra, separarlos convenientemente para que la estructura del antibiótico no interfiera en el proceso de quelación del hierro y de reconocimiento por el receptor. Para que el fármaco ejerza su actividad antibacteriana, el conjugado debe llegar al interior de la célula.



Figura 16. Estructura del conjugado empleado en la estrategia “caballo de Troya”.

En definitiva, el conjugado debe quelatar hierro, ser reconocido por la célula y ser transportado de forma activa. Su reconocimiento molecular puede depender o no de los sustituyentes periféricos, el tipo de espaciador va a determinar si el antibiótico permanece unido o se libera en el interior de la célula, y la elección del antibiótico depende de la diana farmacológica, así como de su compatibilidad con el proceso de conjugación.

Para diseñar estos conjugados, lo primero es preparar compuestos sencillos para ver si siguen funcionando como sideróforos, estableciéndose por tanto, relaciones

³⁰ (a) Budzikiewicz, H. *Curr. Top. Med. Chem.* **2001**, *1*, 73-82. (b) Ji, C.; Juárez-Hernández, R. E.; Miller, M. J. *Future Med. Chem.* **2012**, *4*, 297-313. (c) Möllman, U.; Heinisch, L.; Bauernfeind, A.; Köhler, T.; Ankel-Fuchs, D. *BioMetals* **2009**, *22*, 615-624. (d) Wencewicz, T. A.; Long, T. E.; Möllmann, U.; Miller, M. J. *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 473-486.

estructura/actividad que ayudan a determinar el punto dónde enlazar el espaciador. Las evidencias experimentales parecen señalar que la zona del quelato es la clave en el reconocimiento. Un segundo paso es la elección del antibiótico, que dependerá de la diana farmacológica. En relación con el espaciador y tomando como modelo las sideromicinas naturales, se propone en algunos casos un enlace peptídico como unión entre el sideróforo y el antibiótico.

El primer precedente de sideromicinas artificiales fueron las sulfonamidas preparadas por Zähler y col.³¹ Cuando se unió ácido sulfanilamidonicotínico a los sideróforos ferrioxamina B o ferricrocina se observó actividad antibiótica contra *S. aureus* pero no contra *B. subtilis* o *E. coli*. Este estudio preliminar continuó con investigaciones de antibióticos β -lactámicos unidos a catecolatos o hidroxamatos. En la actualidad, se pueden encontrar numerosos ejemplos del uso de esta estrategia en la bibliografía científica, destacando los estudios llevados a cabo por M. J. Miller en la Universidad de Notre Dame de Estados Unidos, donde se prepararon una gran variedad de sideróforos acoplados a distintos antibióticos conocidos.³²

○ Conjugados sintéticos entre sideróforos y antibióticos no β -lactámicos

En la década de los 90, el grupo de Miller intentó mejorar la actividad de un grupo de antibióticos contra bacterias Gram-negativas conjugando análogos de sideróforos — mimetizando funcionalidades del sideróforo natural— con diversas clases de antibióticos como nucleósidos,³³ glicopéptidos³⁴ y macrólidos.³⁵ Además, otros grupos de investigación realizaron estudios de conjugados con fluoroquinolonas utilizando diferentes análogos de sideróforos.³⁶ En la mayoría de los casos, estos conjugados no presentaron una actividad mayor que el propio antibiótico, y en muchos incluso fue inferior.³⁷

○ Conjugados sintéticos entre sideróforos y antibióticos β -lactámicos

Los antibióticos β -lactámicos son los que más se han aplicado en estos compuestos y estudios llevados a cabo por Miller y col. han demostrado que estas sideromicinas sintéticas exhiben actividad antimicrobiana.

³¹ Zähler, H.; Diddens, H.; Keller, W.; Nageli, H. U. *J. Antibiot.* **1977**, *30*, 201-205.

³² Miller, M. J.; Malouin, F. *Accts. Chem. Res.* **1993**, *26*, 241-249.

³³ Lu, Y.; Miller, M. J. *Biorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 3025-3038.

³⁴ Ghosh, M.; Miller, M. J. *Biorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 43-48.

³⁵ Ghosh, M.; Miller, M. J. *Biorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 1519-1525.

³⁶ Rivault, F.; Liebert, C.; Burger, A.; Hoegy, F.; Abdallah, M. A.; Schalk, I. J.; Mislin, G. L. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 640-644.

³⁷ Souto, A.; Montaos, M. A.; Balado, M.; Osorio, C. R.; Rodríguez, J.; Lemos, M. L.; Jiménez, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 295-302.

Los autores han sintetizado un numeroso rango de conjugados utilizando ligandos hexadentados, tridentados y bidentados,³⁸ llegando a la conclusión de que el tipo de ligando influye en la efectividad del conjugado. Por ejemplo el trishidroxamato tiene una influencia mínima en el crecimiento de *E. coli*, mientras que un conjugado tipo biscatecolato es más eficaz.³²

También observaron que son efectivos los conjugados de sideróforos/ β -lactamas con ligandos mixtos tipo catecolato e hidroxamato como quelantes.³⁹ Las bacterias poseen múltiples formas de captar el hierro, cada una de esas formas está codificada por una secuencia de genes, y cuanto mayor es el número de genes involucrados es más probable que haya más mutaciones y que aparezcan fenómenos de resistencia. La conjugación de antibióticos con sideróforos que poseen los grupos catecolato e hidroxamato en un sólo compuesto, hace que sean reconocidos y transportados por múltiples receptores. Los mutantes que sean resistentes a estos conjugados deben estar severamente afectados en la absorción de hierro, por lo que morirán de inanición. En uno de sus últimos trabajos demostraron que conjugando antibióticos β -lactámicos y sideróforos con ligandos mixtos biscatecolato-monohidroxamato, se consigue una selectiva y potente actividad antibacteriana contra patógenos Gram-negativos como *Acinetobacter baumannii* (MIC = 0.0078 μ M).⁴⁰

Por último, merece especial atención el trabajo publicado por el grupo del Dr. Miller en 2012,⁴¹ donde sintetizaron un sideróforo de estructura tipo triscatecolato con una columna vertebral trípode y sus conjugados con los antibióticos ampicilina y amoxicilina (**20** y **21**, Figura 17).

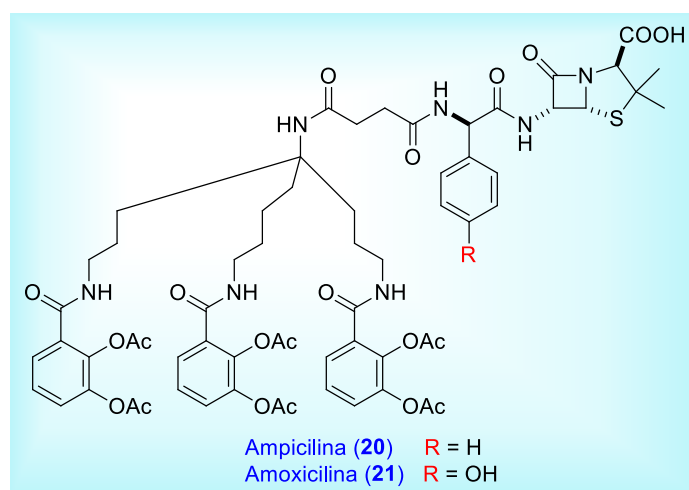


Figura 17. Sideróforo triscatecolato y sus conjugados con ampicilina (**20**) y amoxicilina (**21**).

³⁸ Miller, M. J. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 1563-1579.

³⁹ Ghosh, A.; Ghosh, M.; Niu, C.; Malouin, F.; Moellmann, U.; Miller, M. J. *Chem. Biol.* **1996**, 31, 1011-1019.

⁴⁰ Wenciewicz, T. A.; Miller, M. J. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 4044-4052.

⁴¹ Ji, C.; Miller P. A.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 9898-9901.

Ambos conjugados mostraron una mejora significativa en la actividad antimicrobiana *in vitro* contra especies Gram-negativas con respecto a otros antibióticos utilizados contra *Pseudomonas aeruginosa*.

5. Determinación de la configuración relativa

Tanto en el aislamiento de nuevos sideróforos como en los procesos sintéticos de obtención de los mismos y de sus derivados, la determinación de la configuración relativa y absoluta supone un paso crucial, ya que sus propiedades químicas o biológicas van a depender de su forma tridimensional que va a venir definida por los centros quirales presentes en la molécula. Actualmente, supone quizás la última frontera en la determinación estructural, por lo que la búsqueda de nuevos y más eficaces métodos para determinar la estereoquímica de sistemas moleculares complejos ha despertado una gran atención tanto en la química de productos naturales, como en el resto de la comunidad científica.

La difracción de rayos X, la síntesis total de la molécula cuya estereoquímica se desea conocer o la espectroscopia de RMN, son algunas de las estrategias empleadas en estudios configuracionales hoy en día. De estas técnicas, la espectroscopia de RMN es la más útil y versátil al poder utilizarse en compuestos no cristalinos. Las diferencias que producen los entornos químicos entre varios diastereoisómeros hacen que sus desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento sean determinantes para discernir su estereoquímica. Es por esto que varias áreas de investigación cuentan con estos dos parámetros clave para asignar de manera inequívoca la configuración completa de un compuesto orgánico.

La deducción de la configuración relativa se convierte, generalmente, en el primer paso hacia el conocimiento de la configuración absoluta de un nuevo compuesto, ya que el conocimiento de sólo uno de sus centros asimétricos, conduce a la determinación de la absoluta del resto de los centros quirales relacionados con él. La problemática de la estereoquímica relativa es bien distinta si trata de sistemas rígidos o sistemas flexibles tal como se explicará a continuación.

La determinación de la configuración relativa de compuestos tanto con restricciones intramoleculares, enlaces de hidrógeno o interacciones de tipo débil, como la de compuestos cíclicos con anillos de tres a seis miembros con varios centros quirales, puede ser llevada a cabo a partir de los valores de las constantes de acoplamiento homonucleares protón-protón y/o las medidas de efecto nuclear Overhauser (NOE).

En el caso de estructuras acíclicas flexibles, la asignación de su configuración es extremadamente difícil, ya que la posibilidad de múltiples conformeros a través de los enlaces carbono-carbono, hace que no se pueda aplicar una estrategia directa para el

análisis configuracional. Esta es una de las razones que impiden la caracterización completa de muchos productos naturales que contienen partes flexibles, como es el caso de aquéllos que presentan cadenas polisustituidas abiertas.

Para resolver este problema, en los últimos 15 años varios enfoques se han vuelto muy populares en el campo de la elucidación estructural, como la comparación de los desplazamientos químicos con compuestos similares, la predicción de valores a través de software especializado, o la comparación con “bases de datos universales de RMN”. Sin embargo, la ausencia de modelos apropiados para realizar dichas comparaciones y el limitado número de bases de datos específicas como puede ser la *Base de Datos Universal de RMN*, desarrollada por Kishi y col.,⁴² que requieren una enorme variedad de modelos estructurales para realizar el análisis configuracional, justifica el interés de desarrollar otras herramientas para realizar estas asignaciones.

Una publicación clave en este campo fue la de Murata y col. en el año 1999, cuando desarrollaron una nueva metodología de RMN para el análisis de nuevas estructuras orgánicas acíclicas conocida como análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento (JBCA).⁴³ Esta metodología permite determinar configuraciones relativas en sistemas flexibles 1,2 y 1,3-disustituidos basándose en los valores experimentales de las constantes de acoplamiento homo y heteronucleares.

⁴² (a) Kobayashi, Y.; Lee, J.; Tezuka, K.; Kishi Y. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 2177-2180. (b) Kobayashi Y.; Tan C. H.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2076.

⁴³ Matsumori, N.; Kaneno, D.; Murata, M.; Nakamura, H.; Tachibana, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 866-876.

Capítulo II

Síntesis de análogos de acinetobactina

CAPÍTULO II

SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE ACINETOBACTINA

1. ANTECEDENTES

1.1. Bacteria *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*

Es bien conocido que todas las bacterias del género *Aeromonas* son patógenas principalmente de varias especies de peces, reptiles y anfibios. Estudios recientes han demostrado que también son responsables de enfermedades en humanos,⁴⁴ ya que han sido detectadas en infecciones extraintestinales como endocarditis, síndrome urémico hemolítico, conjuntivitis, infecciones en heridas o peritonitis. Las principales aisladas de muestras intestinales son las correspondientes a las especies *A. hydrophila*, *A. veronii* y *A. caviae*,⁴⁵ sin embargo, no se han presentado brotes epidémicos debidos a estas bacterias.

Una de las especies más estudiadas de este género es la *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, debido a que es el agente etiológico causante de la forunculosis en peces que provoca importantes pérdidas económicas en piscifactorías.

El grupo de microbiología coordinado por el profesor Manuel Lemos de la

⁴⁴ Joseph, S. W.; Carnahan, A. M. *Annu. Rev. Fish Dis.* **1994**, *4*, 315-343.

⁴⁵ Janda, J. M.; Abbott, S. L. *Clin. Infect. Dis.* **1998**, *27*, 332-344.

Universidad de Santiago de Compostela, ha hecho un análisis global de los genes expresados en *A. salmonicida* durante el proceso infeccioso de rodaballo, identificando un *cluster* de seis genes que codifican proteínas relacionadas con la biosíntesis de sideróforos.⁴⁶ De acuerdo con los datos genéticos disponibles, algunas cepas de *A. salmonicida* poseen dos *clusters* de genes diferentes involucrados en la biosíntesis de sideróforos de tipo catecol. Estudios realizados previamente en nuestro grupo de investigación permitieron identificar amonabactina⁴⁷ como el sideróforo producido por uno de los grupos de genes y acinetobactina como el sideróforo producido por el otro grupo de genes.

1.2. Aislamiento y determinación estructural de acinetobactina

Acinetobactina fue aislada en el año 1994 por Yamamoto y col. durante el estudio del mecanismo de adquisición de hierro en bacterias del género *Acinetobacter*, a partir de cultivos de la bacteria *Acinetobacter baumannii* ATCC-19606 en condiciones de baja concentración de hierro.⁴⁸

Uno de los problemas más acuciantes que se han descrito en los últimos años en hospitales son las infecciones por cepas del género *Acinetobacter*. Este tipo de epidemia nosocomial es especialmente peligrosa para los pacientes que se encuentran en las unidades de cuidados intensivos, ya que son particularmente más susceptibles a contagiarse con alguna enfermedad producida por *A. baumannii*, provocando septicemia o infecciones del tracto respiratorio.⁴⁹ Estas infecciones oportunistas ocurren porque dicha bacteria aprovecha la “puerta” que abren los procedimientos invasores habituales (catéteres intravenosos, tubos orotraqueales, heridas quirúrgicas, etc.) ocasionando la infección en el paciente.

Desde que en 1986 se estableció una nueva taxonomía del género *Acinetobacter*, en poco tiempo *A. baumannii* ha alcanzado una amplia distribución por los países desarrollados y recientemente ha vuelto a adquirir protagonismo a causa de los conflictos en Irak y Afganistán, ya que soldados de las tropas estadounidenses allí destacadas han sufrido infecciones de esta bacteria, observándose que es un patógeno muy virulento al ser muy flexible a la hora de captar hierro y haber desarrollado una gran resistencia a la mayoría de los antibióticos.⁵⁰

⁴⁶ Najimi, M.; Lemos, M. L.; Osorio, C. R. *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 2341-2348.

⁴⁷ Telford, J. R.; Raymond, K. N. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 750-761.

⁴⁸ Yamamoto, S.; Okujo, N.; Sakakibara, Y. *Arch. Microbiol.* **1994**, 249-254.

⁴⁹ Cisneros, J. M.; Pachón, J. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2003**, *21*, 221-223.

⁵⁰ Zimble, D. L.; Penwell, W. F.; Gaddy, J. A.; Menke, S. M.; Tomaras, A. P.; Connerly, P. L.; L. A., *Actis. Biometals* **2009**, *22*, 23-32.

La estructura química propuesta para acinetobactina, basándose en estudios de RMN de ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas FAB, presentaba inicialmente un esqueleto muy similar al de anguibactina, sideróforo producido por *Vibrio anguillarum*. La única diferencia radicaba en que acinetobactina posee un anillo de oxazolina en vez de tiazolina.⁴⁸ Sin embargo años más tarde, en 2009, se sugirió que en realidad este compuesto podría ser un intermedio inestable al que se le denominó preacinetobactina (**22a**) y la estructura correcta de acinetobactina (**22b**) se correspondería con el producto obtenido de una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular de **22a** (Figura 18).⁵¹

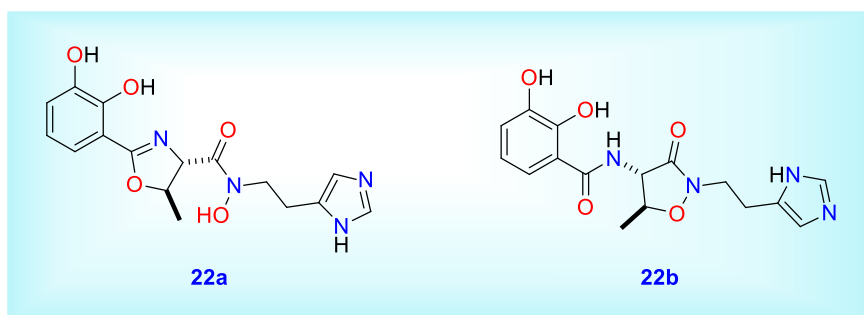


Figura 18. Estructura de preacinetobactina (**22a**) y acinetobactina (**22b**).

El primer precedente de este tipo de reagrupamiento fue publicado en otro sideróforo muy similar estructuralmente a **22b**, pseudomonina (**23b**) la cual posee un grupo salicílico en vez del catecol presente en acinetobactina (Figura 19). De una manera similar su estructura fue inicialmente propuesta como **23a**, pero en el año 2008 se corrigió su estructura acreditándose que este era un intermedio inestable y mediante una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular convierte sus grupos hidroxamato y oxazolina en un anillo de isoxazolidinona.⁵²

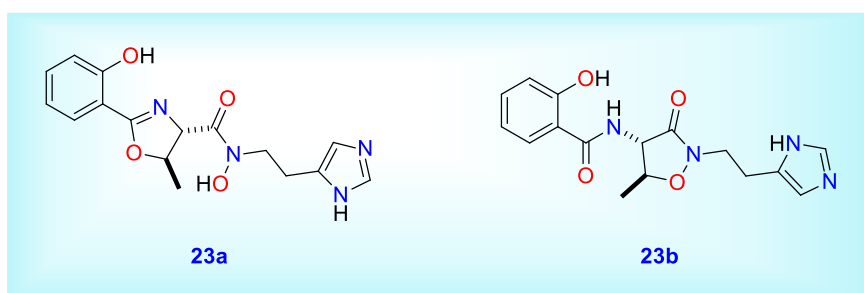


Figura 19. Estructura de prepseudomonina (**23a**) y pseudomonina (**23b**).

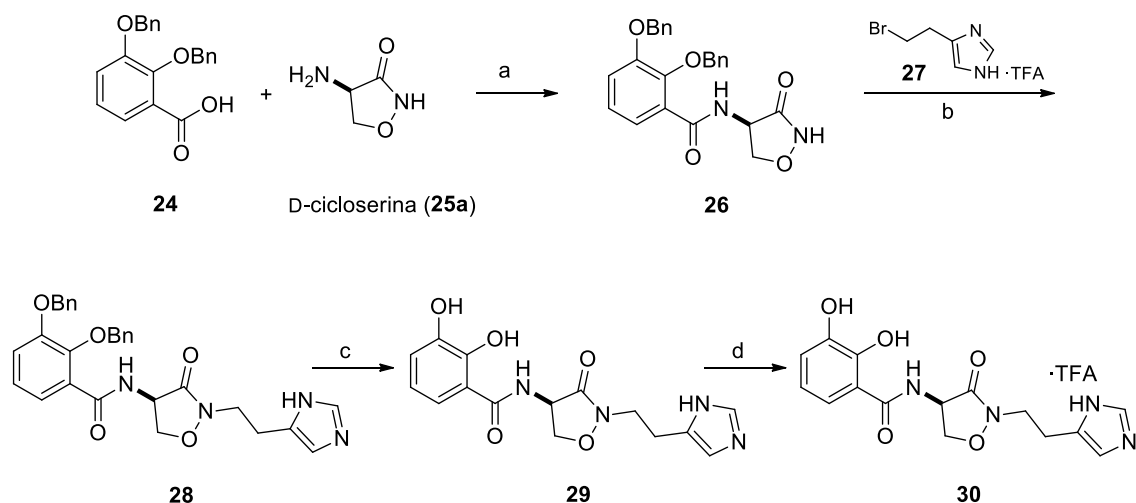
Como los genes implicados en la biosíntesis de los sideróforos pseudomonina (**23b**) y acinetobactina (**22b**) son muy semejantes, en 2009 Walsh y col. concluyeron que en preacinetobactina ocurría una transformación similar a la observada anteriormente

⁵¹ Wuest, W. M.; Sattely, E. S.; Walsh, C. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5056-5057.

⁵² Sattely, E. S.; Walsh, C. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12282-12284.

entre prepseudomonina (**23a**) y pseudomonina (**23b**).⁵¹ Este estudio fue validado mediante el análisis de RMN de ¹H de **22b** comparando los datos espectroscópicos reportados en el aislamiento original de acinetobactina, sugiriendo que en la estructura de acinetobactina está presente un anillo de isoxazolidinona.

Además, para confirmar definitivamente la asignación estructural del fragmento isoxazolidinona, los autores llevaron a cabo la síntesis de un análogo desmetilado de acinetobactina (**30**) que fue completada en cuatro pasos a partir de D-cicloserina (**25a**, Esquema 1). El análisis de HPLC y del espectro de RMN de ¹H de **30** proporcionó propiedades, tanto cromatográficas como espectroscópicas, similares a las de **22b**.



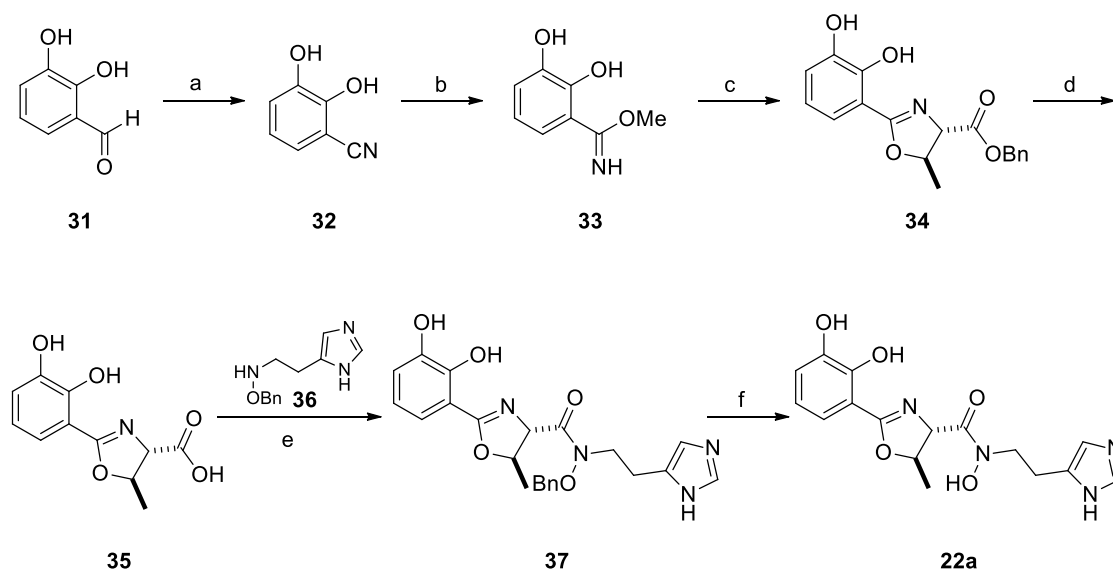
Esquema 1. *Reactivos y condiciones:* (a) PyBroP, DIPEA, DMF (22%); (b) NaH, DMF (33%); (c) Pd/C, H₂, EtOH (100%); (d) TFA, CH₃CN (100%).

Esta metodología sintética servirá como base en nuestro trabajo para desarrollar una estrategia que permita obtener este tipo de compuestos desmetilados.

Es de resaltar que en los trabajos de Walsh y col. no hay un estudio detallado sobre la configuración relativa y/o absoluta de **22a** y **22b**, ya que no se llegó a aislar preacinetobactina (**22a**) y tampoco se describió la rotación específica de acinetobactina (**22b**). Con el fin de determinar la configuración relativa y absoluta de ambos compuestos y corroborar su estructura completa, en el año 2010 Takeuchi y col. sintetizaron los compuestos **22a** y **22b** e hicieron una aproximación sintética a sus respectivos enantiómeros.⁵³

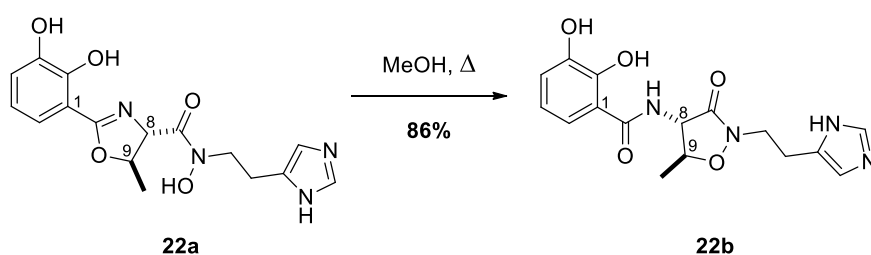
La síntesis de preacinetobactina (**22a**) se realizó en 6 pasos a partir de 2,3-dihidroxibenzaldehído comercial (**31**, Esquema 2).

⁵³ Takeuchi, Y.; Ozaki, S.; Satoh, M.; Mimura, K.; Hara, S.; Abe, H.; Nishioka, H.; Harayama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, 58, 1552-1553.



Esquema 2. *Reactivos y condiciones:* (a) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, HCOONa , HCOOH (68%); (b) 1. AcCl , MeOH . 2. NaHCO_3 (40% para 2 pasos); (c) $\text{L-Thr-OBn}(\text{COOH})_2$, 1,2-dicloroetano (64%); (d) H_2 , 10% Pd/C , MeOH (84%); (e) $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$, $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$, DMF (63%); (f) H_2 , 10% Pd/C , MeOH (64%).

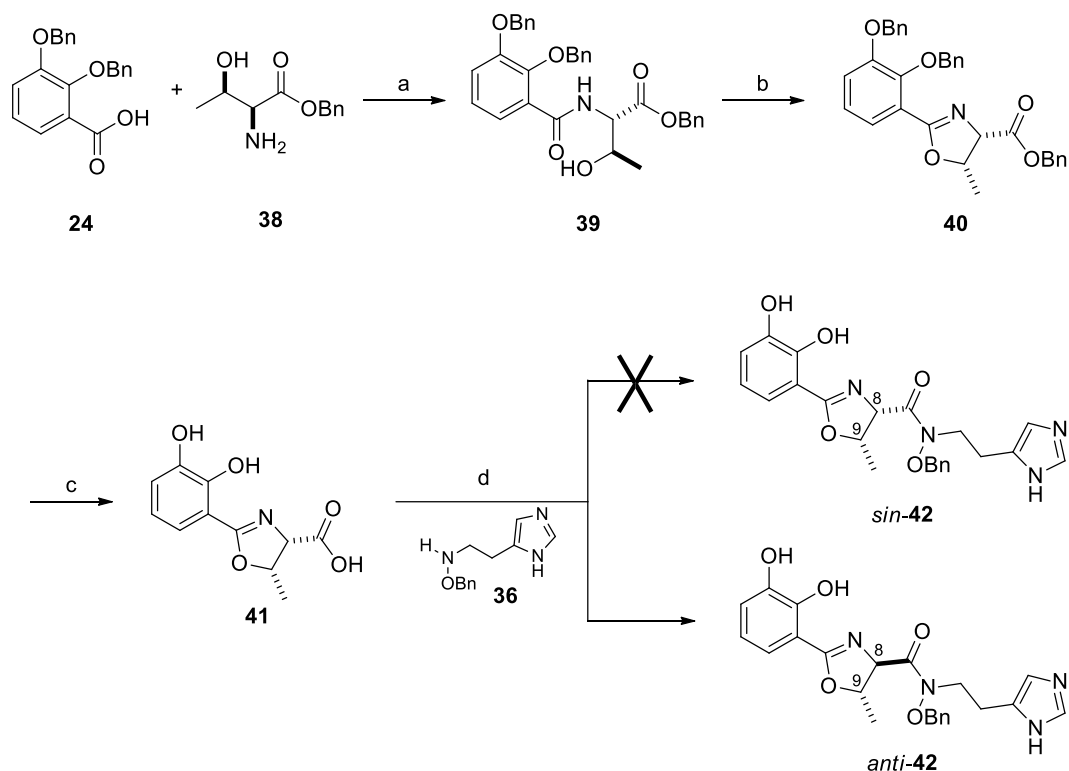
El posterior tratamiento de **22a** con metanol a reflujo condujo a **22b**, que se identificó como acinetobactina después de la comparación de su espectro de RMN de ^1H y de su rotación específica con la del producto natural (Esquema 3).



Esquema 3. Reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular de **22a** para obtener acinetobactina (**22b**).

De esta forma, los autores confirmaron la estructura y la configuración absoluta (8*S*,9*S*) de acinetobactina y corroboraron que preacinetobactina produce **22b** mediante una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ intramolecular.

Adicionalmente en este mismo trabajo, se propuso un esquema sintético para la preparación de los epímeros en la posición C-9 de **22a** y **22b** (Esquema 4). El compuesto **41**, que se corresponde con el diastereoisómero de **35**, se obtuvo con éxito en tres pasos a partir del ácido 2,3-benciloxibenzoico (**24**) y L-Thr-OBn (**38**). Sin embargo, la reacción de acoplamiento de **41** con **36** no proporcionó el compuesto *sin*-**42** deseado, sino que condujo al *anti*-**42**, correspondiente al enantiómero de **37**. Los autores no llegaron por tanto, a sintetizar el enantiómero de acinetobactina.



Esquema 4. Reactivos y condiciones: (a) EDC·HCl, DMAP, DMF (88%); (b) SOCl₂ (88%); (c) H₂, 10% Pd/C, MeOH (80%); (d) EDC·HCl, HOBT·H₂O, DMF (55%).

1.3. Acinetobactina como base para el desarrollo de fármacos

La multirresistencia a los antibióticos de una gran cantidad de bacterias patógenas es un grave problema al que se enfrentan las agencias sanitarias de los países desarrollados y los patógenos de peces no son una excepción. Por tanto, es vital el descubrimiento de nuevos fármacos antimicrobianos eficientes para tratar estas infecciones resistentes a antibióticos comunes. Tal como se ha descrito en el Capítulo I, una forma de aumentar la eficacia de los antimicrobianos contra las infecciones bacterianas es la utilización de la estrategia del “caballo de Troya”.^{30,32,34} Debido a que el fármaco es introducido de forma más efectiva, esta estrategia parece ser la vía más prometedora para atacar de forma específica a cepas bacterianas infecciosas multirresistentes.

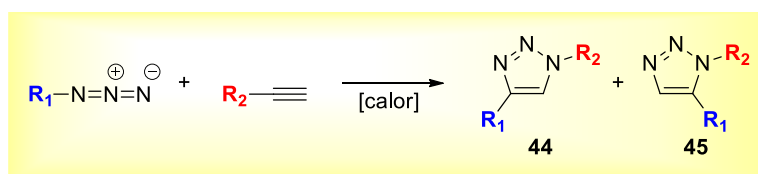
El trabajo propuesto en este capítulo se centra en el estudio de acinetobactina como un candidato muy interesante para aplicar esta estrategia, con el fin de desarrollar nuevos antimicrobianos contra la forunculosis. Dado que acinetobactina también es el sideróforo responsable de la captación de hierro de la bacteria *Acinetobacter baumannii*, los resultados obtenidos en este trabajo pueden ser muy útiles para el tratamiento de otras enfermedades de origen bacteriano producidas en seres humanos por este agente patógeno.

Entre las diversas modificaciones que hemos planteado para la obtención de análogos de acinetobactina, se encuentra el cambio del anillo de imidazol por otro de triazol, siendo la cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen entre azidas orgánicas y alquinos la ruta más directa para obtener estos heterociclos.

La adición de 1,3-dipolos a alquenos para formar anillos de cinco miembros es una reacción clásica en química orgánica que lleva desarrollándose desde hace más de 100 años. El primer precedente de una reacción 1,3-dipolar se remonta al año 1888, cuando Buchner estudió la reacción del éster diazoacético, descubierto cinco años antes por su colega Curtius, con ésteres α,β -insaturados. Desde entonces se han descubierto una gran variedad de 1,3-dipolos: Beckmann descubría las nitronas diez años más tarde, Werner y Buss los óxidos de nitrilo y en 1928 se publicó la primera reacción de Diels-Alder. Pero sólo unos pocos de los dipolos encontrados, como el ozono y los diazocompuestos, presentaron una aplicación general en síntesis durante los primeros 70 años desde el descubrimiento del éster diazoacético.⁵⁴

A) Formación de 1,2,3-triazoles sustituidos

A finales de los años 70 Huisgen desarrolló una aplicación general de esta reacción para la obtención de 1,2,3-triazoles sustituidos mediante el tratamiento de alquinos con azidas alquílicas.⁵⁵ Dicho proceso requiere elevadas temperaturas, generalmente condiciones de reflujo en disolventes como tolueno o tetracloruro de carbono, y periodos de reacción prolongados. Esta reacción presenta además un claro inconveniente, ya que bajo estas condiciones térmicas se forman los dos posibles regioisómeros 1,4 y 1,5-disustituidos en una proporción prácticamente equimolar (Esquema 5).



Esquema 5. Reacción general de obtención de 1,2,3-triazoles (**44** y **45**) mediante la cicloadición 1,3-dipolar entre alquinos y azidas orgánicas.

En la década de los 80 se empezaron a realizar estudios para controlar la regioselectividad de esta reacción con el empleo de cucurbutiril como catalizador.⁵⁶ Sin embargo no fue hasta el año 2002, con los trabajos llevados a cabo independientemente

⁵⁴ Gothelf, K. V.; Jorgensen, K. A. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 863-909.

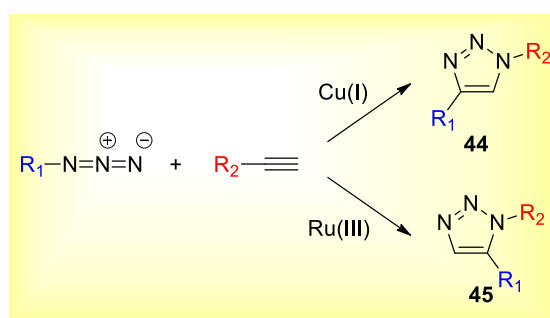
⁵⁵ (a) Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1968**, 7, 321-328; (b) Huisgen, R. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 403-419.

⁵⁶ Mock, W. L.; Irra, T. A.; Wepsiec, J. P.; Manimaran, T. L. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3619-3620.

por los grupos de Sharpless⁵⁷ y Meldal,⁵⁸ cuando que se logró un gran avance en esta reacción, convirtiéndose en la reacción prototipo dentro de las clasificadas como “click”.

El concepto de la química “click” fue introducido por primera vez por el Profesor Sharpless y col. en el año 2001 para definir una nueva metodología empleada en química sintética para obtener compuestos de forma rápida y fiable a partir de unidades pequeñas. El término no se refiere a una reacción en concreto, sino que abarca una serie de reacciones que deben cumplir las siguientes condiciones definidas por Sharpless:⁵⁹ la reacción debe ser modular, estereoespecífica, con rendimientos muy altos y los subproductos generados deben ser eliminados sin utilizar métodos cromatográficos (como destilación o cristalización). Además el proceso debe implicar condiciones de reacción simples, compatibles con la presencia de agua y oxígeno, y el producto debe ser estable bajo condiciones fisiológicas.

Si bien el valor práctico de esta reacción pericíclica radica principalmente en la facilidad de condensación entre grupos azido y alquinos, el gran impacto de la misma tuvo lugar después del descubrimiento del proceso catalizado por cobre(I), el cual no sólo aumenta notablemente la velocidad de reacción, permitiendo llevarla a cabo a temperatura ambiente,⁶⁰ sino que además da lugar a una absoluta regioselectividad con la formación exclusiva del isómero 1,4-disustituido (**44**, Esquema 6). El catalizador cobre(I) puede ser generado *in situ*, con sulfato de cobre(II) y ascorbato sódico como agente reductor, o puede emplearse un haluro cuproso con un ligando estabilizador.^{57,58} Por otro lado, en el año 2005, el trabajo realizado por Zhang y col.⁶¹ demostró que el uso catalítico de rutenio(III) cambia la regioselectividad permitiendo obtener el isómero 1,5-disustituido (**45**, Esquema 6).



Esquema 6. Regioselectividad de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre alquinos y azidas orgánicas con catalizadores de Cu(I) y Ru(III).

⁵⁷ Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

⁵⁸ Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.

⁵⁹ Kolb, H. C.; Finn, M.G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

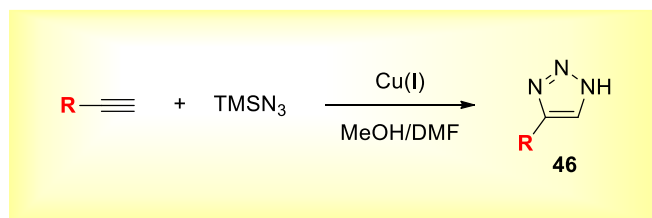
⁶⁰ Appukkutta, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V.; Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.

⁶¹ Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.

B) Formación de 1,2,3-triazoles no sustituidos

En la bibliografía científica se han descrito varios ejemplos sobre la síntesis de triazoles no sustituidos (**46**) mediante reacciones de cicloadición [3+2] entre alquinos y azidas inorgánicas. Por ejemplo, la adición directa de ácido hidrazoico, generado *in situ* al reaccionar azida sódica con un ácido, a alquinos con grupos atractores de electrones,⁶² un proceso peligroso y altamente nocivo. Alternativamente, la adición de una azida orgánica, azida de trimetilsililo, a alquinos terminales o internos para obtener triazoles sin sustituyentes en los átomos de nitrógeno es un proceso mucho más seguro, pero esta reacción está limitada a alquinos con algún grupo funcional activante, requiriendo además de altas temperaturas ya que son reacciones muy lentas.⁶³

En el año 2004 Jin y col. diseñaron una metodología de síntesis de 1,2,3-triazoles no sustituidos a partir de azida de trimetilsililo y alquinos terminales no activados, usando cobre(I) en presencia de MeOH/DMF (Esquema 7).⁶⁴



Esquema 7. Reacción general de obtención de 1,2,3-triazoles (**46**) mediante la cicloadición 1,3-dipolar entre alquinos no activados y azidas en presencia de Cu(I).

⁶² (a) Sheehan, J. C.; Robinson, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 1436-1440. (b) Hartzel, L. W.; Benson, F. *R. J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 667-670.

⁶³ Birkofer, L.; Ritter, A. *Angew. Chem.* **1965**, 77, 414-426.

⁶⁴ Jin, T.; Kamijo, S.; Yamamoto, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3789-3791.

2. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta estos antecedentes, nos planteamos como objetivo de este capítulo la síntesis de una serie de análogos de acinetobactina, con el propósito de determinar los requerimientos estructurales esenciales presentes en su estructura para que exista un reconocimiento molecular en relación a su actividad siderófora. Los resultados obtenidos en los bioensayos serán de gran utilidad para la preparación de conjugados que serán empleados en el desarrollo de nuevos métodos para el diagnóstico, el control y la prevención de la forunculosis.

Para alcanzar este objetivo general se plantearon como objetivos concretos:

A) Síntesis de análogos desmetilados

Para evaluar la influencia del grupo metilo en el anillo de isoxazolidinona (posición C-9) y la presencia del grupo imidazol (posición C-12) en la actividad siderófora, se propone la obtención de cuatro análogos desmetilados variando los sustituyentes en la posición C-12: con un grupo metilamino (**47**), con un anillo de imidazol (**48**)—al igual que acinetobactina—, con un anillo de triazol (**49**) y con un triazol funcionalizado (**50**) (Figura 20).

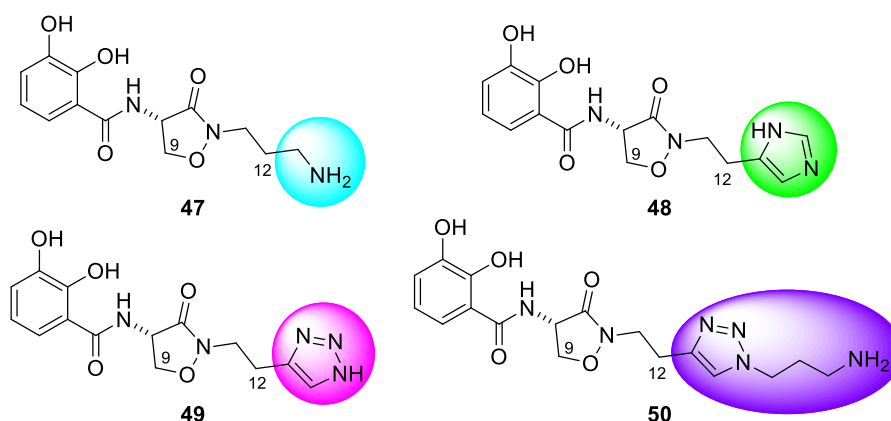


Figura 20. Análogos de acinetobactina desmetilados.

B) Síntesis del enantiómero de acinetobactina

Con el objetivo de investigar la influencia que la configuración de los centros asimétricos tiene en el reconocimiento molecular de la bacteria, se propone la síntesis del enantiómero de acinetobactina (**51**), con configuración absoluta *R* para los estereocentros C-8 y C-9 (Figura 21).

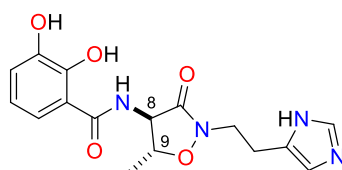


Figura 21. *Ent*-acinetobactina (**51**).

3. SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE ACINETOBACTINA

A continuación se presentan las estrategias sintéticas seguidas para la obtención de los cinco análogos de acinetobactina.

3.1. Síntesis de análogos desmetilados

Para estudiar la influencia que ejerce la presencia del grupo metilo en la posición C-9 del anillo de isoxazolidinona y la presencia del imidazol en la actividad siderófora de los análogos acinetobactina, se prepararon los compuestos **47**, **48**, **49** y **50** (Figura 22).

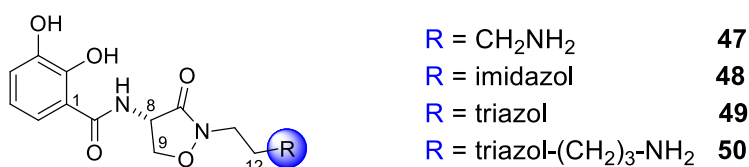
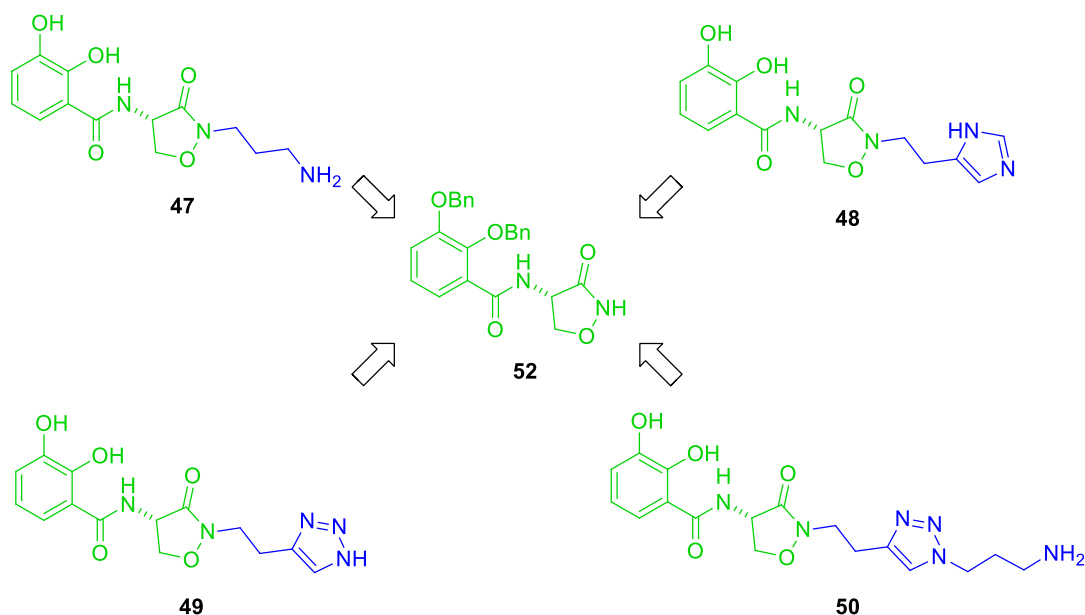


Figura 22. Análogos de acinetobactina con distintos grupos en la posición C-12.

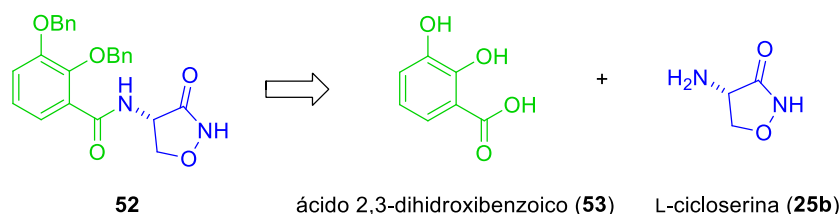
La síntesis de los compuestos **47** y **50** se planteó en vista a su posible utilización como portadores de antibióticos. A la hora de diseñar las estructuras de estos análogos debemos tener en cuenta la incorporación de una funcionalidad apropiada —como un grupo amino— para que actúe como ancla para unirse directamente o por medio de espaciadores a agentes biológicamente activos, como pueden ser los antibióticos.

En el análisis retrosintético diseñado para estos cuatro análogos se quiso llevar a cabo una síntesis divergente utilizando como intermedio común la amida **52** (Esquema 8).



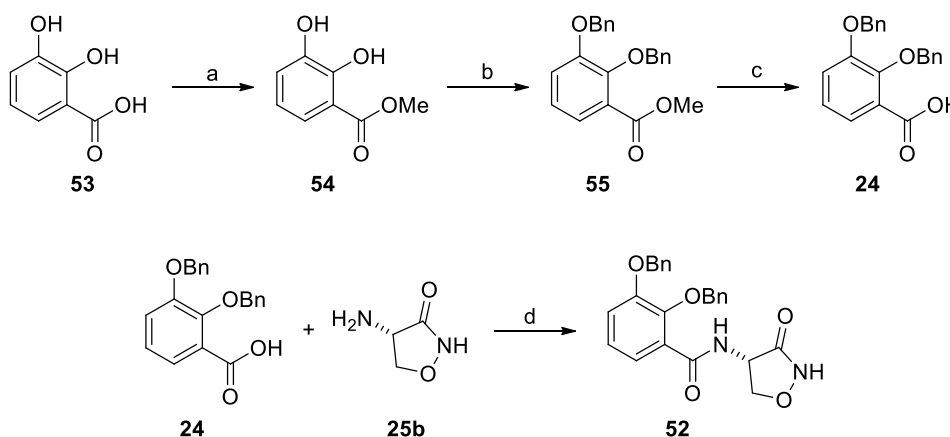
Esquema 8. Obtención de distintos análogos de acinetobactina a partir del compuesto **52**.

En el análisis retrosintético diseñado para la obtención del intermedio común **52** (Esquema 9), se utilizó el ácido 2,3-dihidroxi benzoico (**53**) y L-cicloserina (**25b**) ambos reactivos comerciales, mediante la estrategia empleada por Walsh y col.⁵¹



Esquema 9. Análisis retrosintético del intermedio común **52**.

La síntesis de la amida **52** (Esquema 10) comenzó con la preparación del ácido carboxílico **24** a partir del ácido 2,3-dihidroxi benzoico (**53**) usando la metodología de Sharma y col.⁶⁵ El primer paso supuso la esterificación de **53** empleando H_2SO_4 en metanol para dar el éster metílico **54**. Seguidamente, la protección de los grupos hidroxilo fenólicos como éteres empleando bromuro de bencilo y carbonato potásico en una mezcla $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$, condujo al éster metílico **55**, cuya hidrólisis en medio básico a 50 °C dio lugar al correspondiente ácido carboxílico **24**. Los datos espectroscópicos de RMN obtenidos para este compuesto coincidieron con los mostrados en la bibliografía.



Esquema 10. *Reactivos y condiciones:* (a) H_2SO_4 , MeOH , Δ (95%); (b) BnBr , K_2CO_3 , $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (cuantitativo); (c) $\text{Ba}(\text{OH})_2$, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 50 °C (95%); (d) PyBroP , DIPEA , DMF (45%).

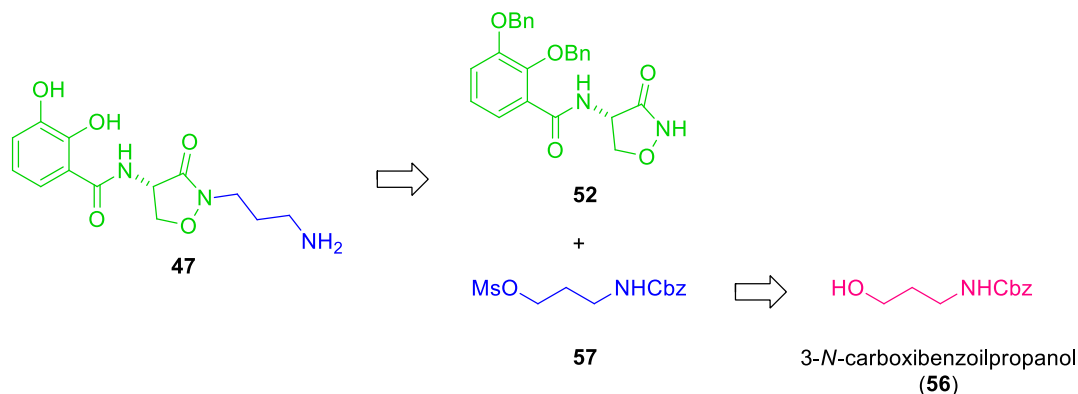
El acoplamiento del ácido **24** con L-cicloserina (**25b**) en presencia del agente acoplante PyBroP en DMF , condujo a la amida **52**, cuyos datos espectroscópicos de RMN coincidieron con los publicados para el enantiómero de este compuesto (**26**, Esquema 1).⁵¹ Adicionalmente, su espectro de masas (+)-ESI de alta resolución confirmó su estructura al mostrar el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 419.1598 (masa calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_5$: 419.1601).

⁶⁵ Sharma, S. K.; Miller, M. J.; Payne, S. M. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 357-367.

De esta manera se sintetizó el intermedio **52**, en cuatro etapas a partir del ácido 2,3-hidroxibenzoico (**53**) con un rendimiento global del 41%.

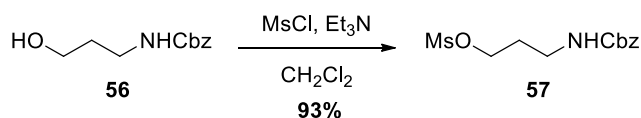
3.1.1 Síntesis del análogo con un grupo metilamino en C-12 (**47**)

En primer lugar, se preparó este análogo por su simplicidad estructural y sintética. En el análisis retrosintético diseñado para la obtención de **47** (Esquema 11), se planteó la *N*-alquilación del compuesto **52** con el mesilato **57**, que se obtendría a su vez de 3-*N*-carboxibenzoilpropanol (**56**) comercial.



Esquema 11. Análisis retrosintético del análogo **47**.

Partiendo del alcohol comercial **56**, el primer paso fue la conversión del grupo hidroxilo en un buen grupo saliente. Para ello se utilizó cloruro de metanosulfonilo en CH₂Cl₂ bajo condiciones básicas,⁶⁶ obteniéndose el mesilato **57** con un rendimiento del 93% (Esquema 12). La presencia en el espectro de RMN de ¹H del compuesto obtenido del singulete a 3.01 ppm, correspondiente al metilo del grupo metanosulfonilo, indicó la introducción del grupo mesilato, confirmando por tanto la obtención de **57**.



Esquema 12. Obtención del mesilato **57**.

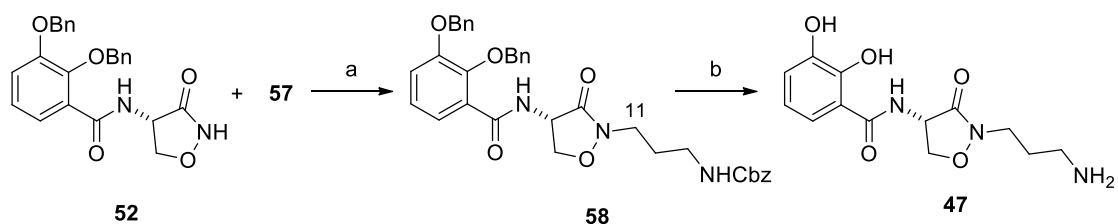
La ruta sintética siguió con el tratamiento de la amida **52** con el mesilato **57** en presencia de carbonato sódico⁶⁷ y yoduro sódico en CH₃CN, para obtener el compuesto alquilado **58** en un 56% de rendimiento (Esquema 13). El desplazamiento a menos frecuencia en su espectro de RMN de ¹H del triplete (*J* = 5.9 Hz) correspondiente al protón H-11, de 4.28 ppm en **57** a 3.65 ppm en **58**, confirmó la *N*-alquilación. Además,

⁶⁶ Brouwer, A. J.; Liskamp, R. M. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 487-495.

⁶⁷ Lebedev, A. Y.; Holland, J. P.; Lewis, J. S. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 1706-1708.

su espectro (+)-ESIMS de alta resolución mostró el ión $[M+H]^+$ a m/z 610.2538 (masa calculada para $C_{35}H_{36}N_3O_7$: 610.2547), confirmando la estructura de **58**.

Es de destacar que, en un principio, la reacción a temperatura ambiente no evolucionaba, por lo que se tuvo que calentar hasta 60 °C; esto se debe a la poca solubilidad del carbonato sódico en un disolvente orgánico a temperatura ambiente. Además, cuando la reacción se llevó a cabo en ausencia de yoduro sódico, el rendimiento fue mucho menor. El rendimiento más alto en presencia de yoduro se debe a que éste es mejor grupo saliente que el mesilato.



Esquema 13. *Reactivos y condiciones:* (a) Na_2CO_3 , NaI, CH_3CN , 60 °C (56%); (b) H_2/Pd , $AcOH/MeOH$ (1:4) (85%).

Se recurrió a la hidrogenación catalítica con paladio/carbón del compuesto **58** para eliminar los grupos protectores bencilo y Cbz. En los primeros intentos se conseguía la eliminación de ambos grupos pero también se producía la apertura del anillo de isoxazolidinona; sólo acidificando ligeramente el medio con ácido acético, se consiguió el análogo deseado **47** con un rendimiento del 85%.

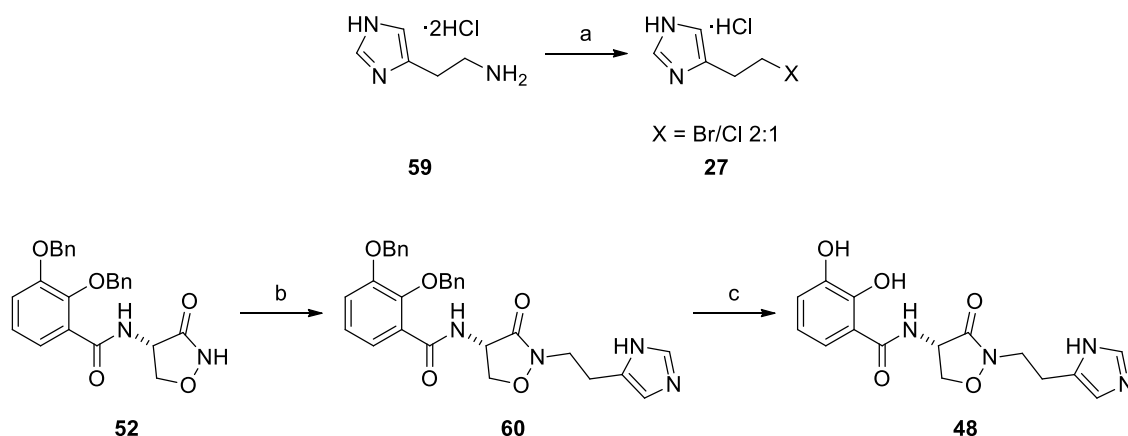
Tras su purificación por HPLC en fase reversa, la estructura de **47** se confirmó por RMN de 1H y de ^{13}C , así como por espectrometría de masas. El espectro de RMN mostró la completa desprotección de los grupos hidroxilo y amino al observarse la desaparición de las correspondientes señales de la zona aromática y de las señales en torno a 5 ppm, correspondientes al grupo bencilo. Por otro lado, su espectro (+)-HR-ESIMS confirmó la permanencia del anillo de isoxazolidinona mostrando el ión $[M+H]^+$ a m/z 296.1194 (masa calculada para $C_{13}H_{18}N_3O_5$: 296.1202), indicando por tanto que el heterociclo no se había abierto.

De esta forma se obtuvo **47** en dos etapas sintéticas a partir de **52**, con un rendimiento global del 48%.

3.1.2 Síntesis del análogo con un grupo imidazol en C-12 (**48**)

En la síntesis del análogo **48** a partir del compuesto **52** se siguió la estrategia empleada por Walsh y col.⁵¹ (Esquema 1) pero con algunas modificaciones que permitieron mejorar el rendimiento global (Esquema 14).

El primer paso de esta ruta sintética supuso la obtención del compuesto **27**, en el que el grupo amino de la histamina es convertido en un buen grupo saliente (Cl/Br) mediante el tratamiento del dihidrocloruro de histamina comercial (**59**) con nitrito sódico y bromuro potásico en ácido sulfúrico a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, tal como se describe en la bibliografía,⁶⁸ obteniéndose una mezcla 2:1 de los derivados bromado y clorado. Para evitar reacciones intramoleculares en su almacenamiento, fue necesaria la adición de ácido clorhídrico. Su espectro de masas (+)-ESI confirmó la formación de los dos haluros por la aparición de los picos a m/z 131 y 133, con intensidades relativas 3:1 correspondiente al ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ del derivado clorado, y de los picos a m/z 175 y 177, de intensidades relativas 1:1 correspondiente al ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ del derivado bromado. Su espectro de RMN de ^1H mostró dos tripletes a 3.79 y 3.64 ppm que integran por 2 y 4 protones, y otros dos tripletes a 3.26 y 3.16 ppm que integran por 4 y 2 protones, respectivamente, indicando una relación bromuro/cloruro 2:1.



Esquema 14. *Reactivos y condiciones:* (a) NaNO_2 , H_2SO_4 , KBr , $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (90%); (b) **27**, Na_2CO_3 , NaI , CH_3CN , $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (65%); (c) H_2/Pd , AcOH/MeOH (1:4) (99%).

La *N*-alquilación de **52** con la mezcla de halogenuros **27** se realizó empleando las mismas condiciones de reacción que las utilizadas en la preparación de **58**, obteniéndose el compuesto **60** con un rendimiento del 65%. Estas condiciones resultaron ser mejores que las descritas en la bibliografía, en las que se consigue un 36% de rendimiento al emplear hidruro sódico como base, en ausencia de NaI y a temperatura ambiente. La comparación con los datos espectroscópicos del producto obtenido coincidió con los descritos en la bibliografía para su enantiómero.⁵¹

La desprotección final de los grupos fenol mediante hidrogenación catalítica con Pd/C en medio ligeramente ácido permitió obtener el compuesto **48** con rendimiento cuantitativo. Tras ser purificado por HPLC en fase reversa, se confirmó su estructura por RMN de ^1H y ^{13}C , así como por espectrometría de masas. El espectro de RMN de ^1H de

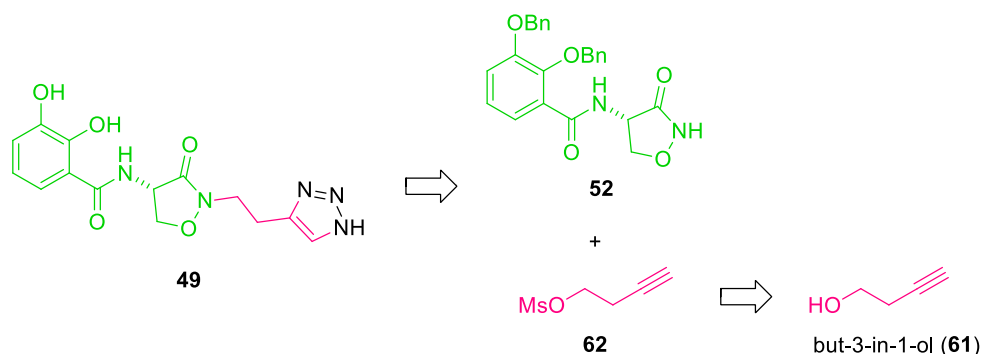
⁶⁸ Ting, R.; Lerner, L.; Perrin, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12720-12721.

48 mostró las mismas señales que las publicadas para su correspondiente enantiómero.⁵¹ En el espectro de RMN de ¹³C se observó la desaparición de las señales correspondientes al grupo bencilo y el espectro (+)-ESIMS de alta resolución mostró un pico a m/z 333.1198 correspondiente al ión $[M+H]^+$ (masa calculada para $C_{15}H_{16}N_4O_5$: 333.1193), confirmando la estructura de **48**.

De esta forma, se obtuvo el análogo **48** en dos etapas de síntesis a partir del intermedio **52** con un rendimiento global del 64%.

3.1.3 Síntesis del análogo con un grupo triazol en C-12 (**49**)

En el análisis retrosintético diseñado para la preparación de **49** (Esquema 15) se planteó la formación del heterociclo nitrogenado a partir del alquino **62**, que se obtendría a su vez del alcohol comercial **61**. Como se ha descrito previamente, la obtención de este tipo de anillos se logra fácilmente mediante una reacción entre un alquino terminal y un azida orgánica usando Cu(I) como catalizador, conocida como la reacción prototipo dentro de las clasificadas como “click”.⁶⁹

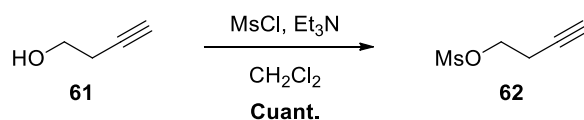


Esquema 15. Análisis retrosintético del análogo **49**.

Para introducir el anillo de triazol en la posición C-12, la mejor alternativa es partir de un triple enlace entre las posiciones C-13 y C-14. Éste sería fácilmente obtenible por conversión del hidroxilo del but-3-in-1-ol (**61**) en un buen grupo saliente y su posterior sustitución por la amida **52**.

Con este fin se introdujo un grupo mesilo en la posición C-1 del alcohol comercial **61** utilizando las mismas condiciones de reacción que para la preparación de **57**, es decir cloruro de metanosulfonilo y trietilamina en CH_2Cl_2 , obteniéndose **62** con rendimiento cuantitativo (Esquema 16).

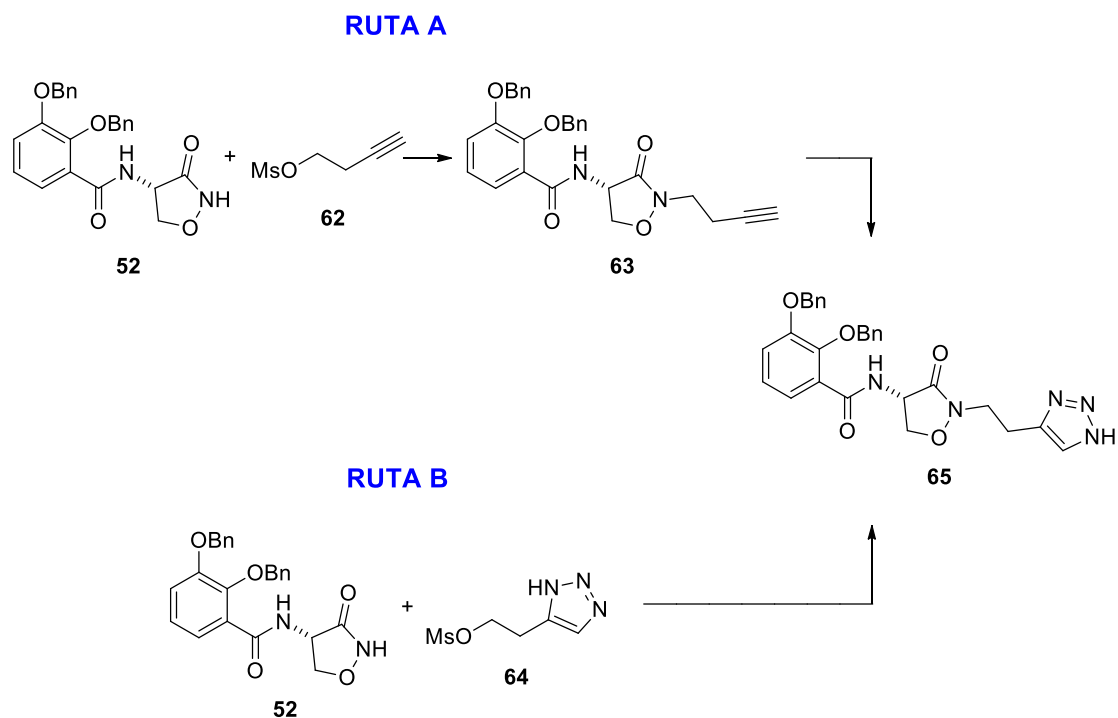
⁶⁹ (a) Li, H.; Riva, R.; Jérôme, R.; Lecomte, P. *Macromolecules* **2007**, *40*, 824-831. (b) Chen, P. C.; Patil, V.; Guarrant, W.; Green, P.; Oyeler, A. K. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4839-4853. (c) Fournier, D.; Hoogenboom, R.; Schubert U. S. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1369-1380.



Esquema 16. Obtención del mesilato **62**.

El espectro de RMN de ^1H de **62** confirmó la introducción del grupo mesilo al observarse la aparición de un singulete a 3.01 ppm, correspondiente al metilo del grupo metanosulfonilo.

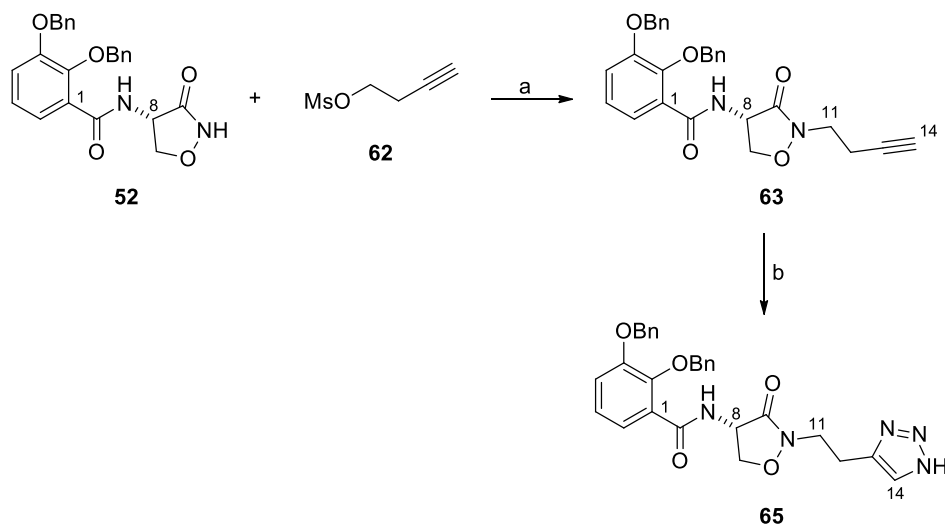
Para la preparación de **65** se llevaron a cabo dos rutas en paralelo, las rutas A y B, utilizando los mismos compuestos pero invirtiendo el orden (Esquema 17). En la ruta A, se plantea incorporar primero el fragmento con el alquino al intermedio **52** y después formar el triazol mediante una cicloadición 1,3-dipolar, mientras que en la ruta B se invierten los pasos, es decir primero se obtendría el triazol **64** y después se incorporaría al intermedio **52**.



Esquema 17. Obtención de **65** mediante dos rutas alternativas.

La ruta A comenzó con la *N*-alquilación de **52** con el mesilato **62**, empleando carbonato sódico y yoduro sódico en acetonitrilo a 60 °C, obteniéndose el alquino **63** con un 61% de rendimiento (Esquema 18). La estructura de **63** se confirmó por RMN de ^1H con la aparición del triplete ($J = 2.6$ Hz) a 1.98 ppm, correspondiente al protón H-14, y la aparición de las señales a 2.53 y 3.72 ppm, correspondientes a los protones α y β al triple enlace, respectivamente. Además, su espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia del triple enlace entre C-13 y C-14 al mostrar las señales de dos carbonos a

80.0 y 52.5 ppm. También se observaron las señales de los carbonos metilénicos C-11 y C-12 a 43.8 y 17.1 ppm, respectivamente.

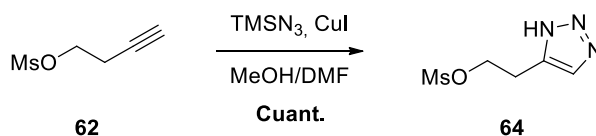


Esquema 18. *Reactivos y condiciones:* (a) Na_2CO_3 , NaI, CH_3CN , 60 °C (61%); (b) TMSN_3 , CuI, MeOH/DMF (1:9), 100 °C (96%).

La reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre el alquino **63** y azida de trimetilsililo catalizada por cobre(I) en MeOH/DMF a 100 °C,⁶⁴ condujo al 1,2,3-triazol **65** con un rendimiento del 96%. En el espectro de RMN de ^1H se observó la desaparición de la señal del triplete a 1.98 ppm, correspondiente al protón del alquino terminal H-14 en **63**, y la aparición de un singulete a 7.71 ppm que se asignó al protón aromático del triazol. También se observó un desplazamiento a más frecuencia, de 2.53 ppm en **63** a 3.10 ppm en **65**, de la señal correspondiente a los protones H-12. La formación del heterociclo nitrogenado también quedó confirmada por RMN de ^{13}C al mostrar el desplazamiento de las señales del carbono de la posición 14 y del carbono de la posición 13 a la zona aromática del espectro.

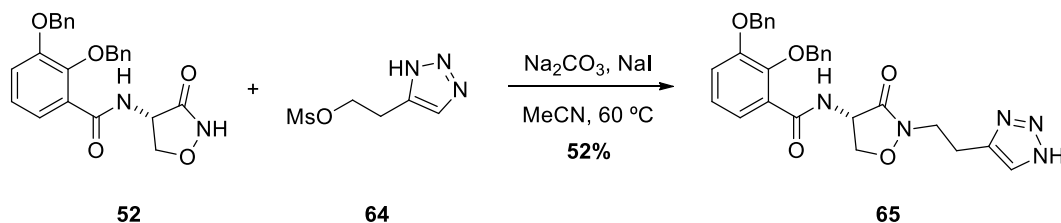
Con esta ruta se llegó al compuesto **65** en dos pasos a partir del intermedio **52** con un rendimiento global del 58%.

Paralelamente se llevó a cabo la ruta B. En este caso, se logró la obtención del 1,2,3-triazol **64** con rendimiento cuantitativo empleando las mismas condiciones que las descritas en la ruta A para la obtención de **65**: TMSN_3 y CuI en cantidades catalíticas en MeOH/DMF (Esquema 19).



Esquema 19. Obtención del 1,2,3-triazol **64**.

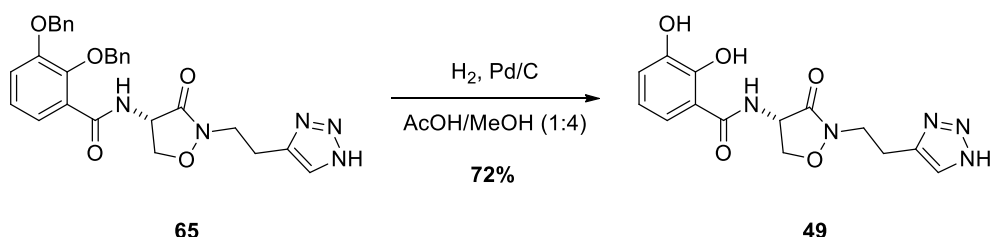
La *N*-alquilación de **52** con el mesilato **64** empleando las mismas condiciones que en los casos descritos anteriormente, condujo al triazol **65** con un 52% de rendimiento (Esquema 20). Su estructura fue confirmada mediante la comparación de sus datos espectroscópicos de RMN con los del compuesto obtenido mediante la ruta A.



Esquema 20. Obtención de **65** mediante la *N*-alquilación de **52**.

La síntesis de **65** mediante esta ruta se completó en dos etapas a partir de **52** con un rendimiento global del 52%, resultando más conveniente la ruta A ya que proporcionó mayor rendimiento.

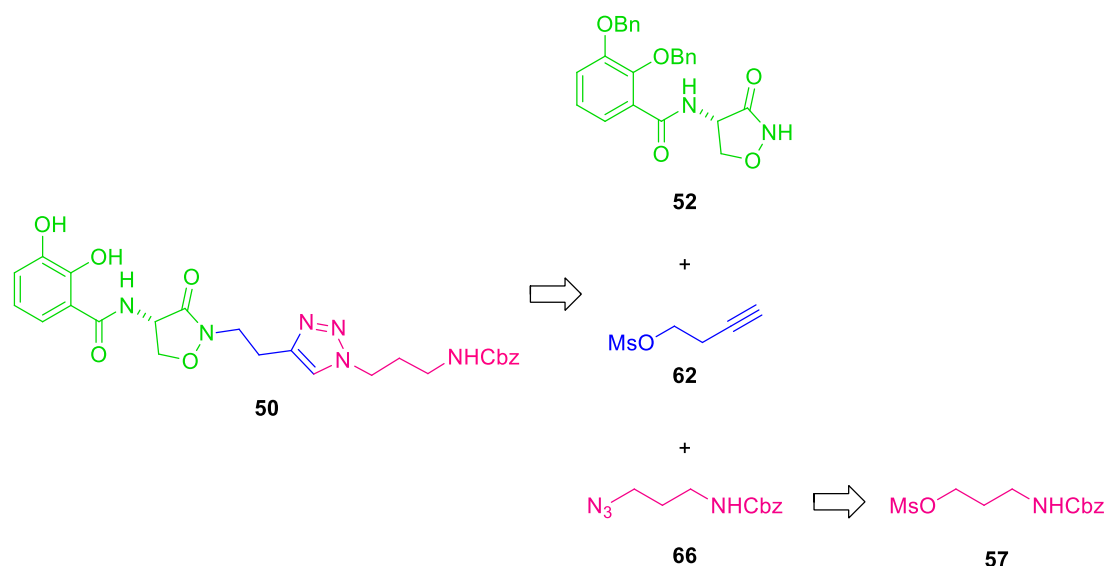
Finalmente, la hidrogenación catalítica de **65**, empleando la misma metodología que en los casos descritos anteriormente condujo al análogo requerido **49** con un rendimiento del 72% después de ser purificado por HPLC en fase reversa (Esquema 21). Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del producto obtenido confirmaron la desprotección de los grupos hidroxilo del catecol al observarse la desaparición de las señales de los grupos bencilo. Adicionalmente su espectro (+)-ESIMS de alta resolución confirmó la obtención de **49** al mostrar el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 334.1141 (masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_5$: 334.1145).



Esquema 21. Síntesis del análogo **49** mediante la hidrogenación catalítica de **65**.

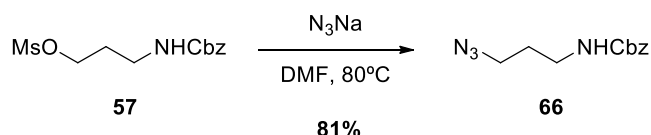
3.1.4 Síntesis del análogo con un grupo triazol funcionalizado en C-12 (**50**)

En el análisis retrosintético diseñado para la preparación del análogo **50** (Esquema 22), se planteó formar el anillo de triazol llevando a cabo una cicloadición 1,3-dipolar entre el alquino **62** y la azida **66**, la cual se obtendría del mesilato **57**.



Esquema 22. Análisis retrosintético del análogo **50**.

El primer paso fue la sustitución del grupo mesilato del compuesto **57**, obtenido a partir de 3-*N*-carboxibenzoilpropanol (**56**) comercial (Esquema 12), por el grupo azido empleando azida sódica en DMF seca a 80 °C,⁷⁰ obteniéndose **66** con un rendimiento del 81% (Esquema 23). El desplazamiento en el espectro de RMN de ¹H a menos frecuencia, de 4.28 ppm en **57** a 3.36 ppm en **66**, del triplete correspondiente al protón H-1, y la desaparición del singulete a 3.01 ppm, correspondiente al metilo del grupo mesilato, confirmaron la introducción del grupo azido, y por tanto la obtención de **66**.

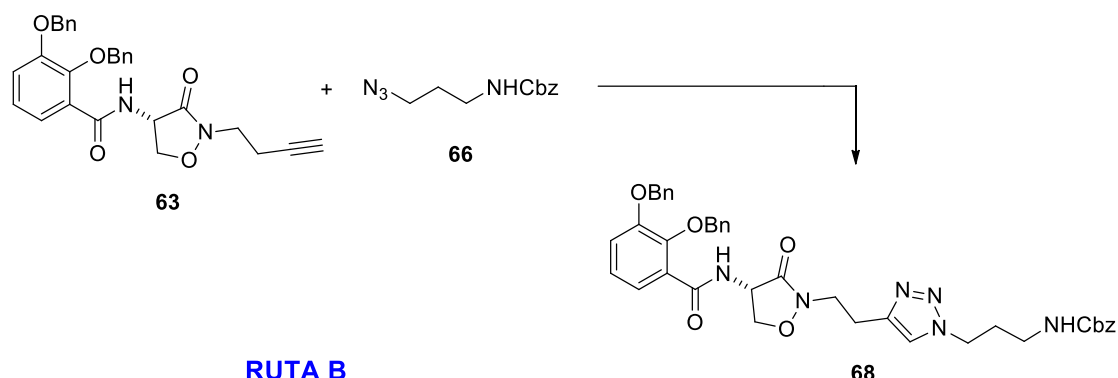


Esquema 23. Obtención de la azida **66**.

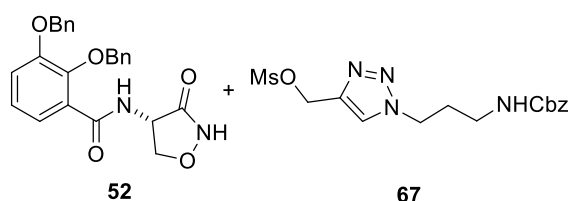
Para la síntesis del heterociclo **68**, al igual que para la obtención de **65**, se llevaron a cabo dos rutas paralelas: la ruta A, en la que la formación del triazol se produciría sobre el alquino ya introducido en la amida **52**, y la ruta B en la que se invierten los pasos, es decir el heterociclo se obtendría antes de la *N*-alquilación de **52** (Esquema 24).

⁷⁰ Danieli, B.; Lesma, G.; Passarella, D.; Sacchetti, A.; Silvani A.; Virdis A. *Org. Lett.* **2004**, 6, 493-496.

RUTA A

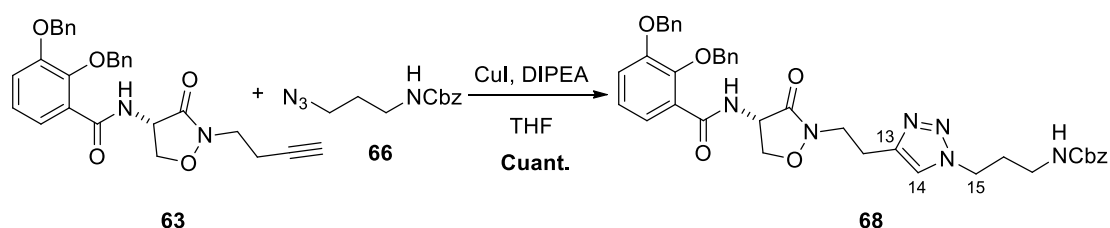


RUTA B



Esquema 24. Obtención de **68** mediante dos rutas alternativas.

En la ruta A propuesta, la cicloadición 1,3-dipolar entre el alquino **63** y la azida **66** empleando DIPEA como base, en presencia del catalizador de Cu(I) y THF,⁷¹ condujo a **68** con rendimiento cuantitativo (Esquema 25).



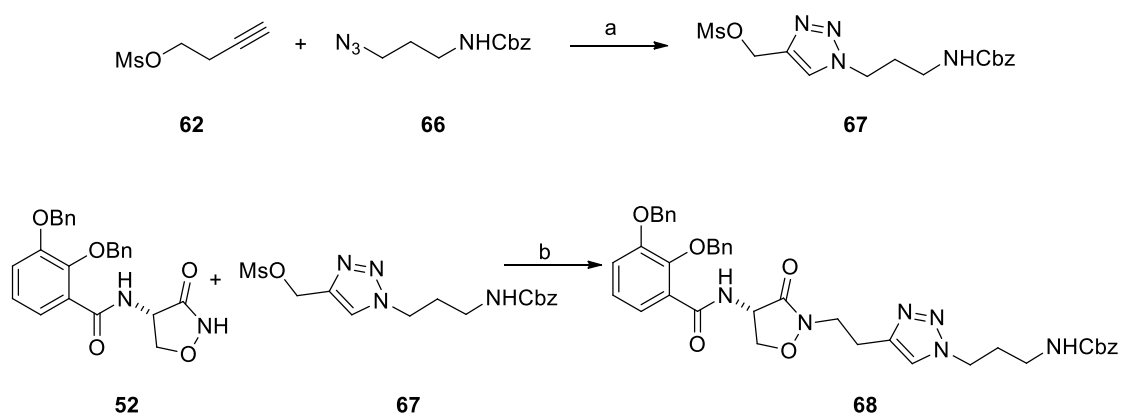
Esquema 25. Cicloadición 1,3-dipolar catalizada por Cu(I) entre el alquino **63** y la azida **66**.

Su estructura se confirmó utilizando técnicas monodimensionales de RMN ^1H , ^{13}C y DEPT-135 junto con los experimentos bidimensionales ^1H - ^1H COSY y HMBC. El espectro de RMN de ^1H indicó la formación del triazol al mostrar la desaparición del triplete a 1.98 ppm, correspondiente al protón del triple enlace de **63** y la aparición del singulete a 7.51 ppm, asignado al protón aromático del anillo de triazol de **68**. Además, se observó el desplazamiento químico (de 3.36 ppm en **66** a 4.32 ppm en **68**) del triplete asignado a los protones H-15. La formación del heterociclo también se confirmó por el desplazamiento de la señal del carbono C-13 a 136.5 ppm en su espectro de RMN de ^{13}C y por espectrometría de masas (+)-HR-ESI, que mostró el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 705.3012 (masa calculada para $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_7$: 705.3031). En cuanto a la regioselectividad de la reacción, la formación del isómero 1,4-disustituido quedó confirmada mediante su

⁷¹ Riva, R.; Schmeits, S.; Jérôme, C.; Jérôme, R.; Lecomte, P. *Macromolecules* **2007**, *40*, 796-803.

espectro de correlación HMBC, que mostró como la señal de los protones H-15 presenta pico de cruce con la señal del carbono metínico C-14, mientras que no lo presenta con la señal del carbono de la posición C-13.

De forma paralela se llevó a cabo la ruta B. En este caso, primero se obtuvo el 1,2,3-triazol **67** mediante una reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre el alquino **62** y la azida **66** catalizada por Cu(I) empleando DIPEA como base en THF. Estas condiciones de reacción permitieron obtener el compuesto **67** de forma regioselectiva y con rendimiento cuantitativo. Su espectro de RMN de ^1H indicó la formación del heterociclo al mostrar la desaparición de la señal del triplete a 2.05 ppm, correspondiente al protón del triple enlace de **62**, y la aparición de un singlete a 7.57 ppm que se asignó al protón aromático del triazol **67** (Esquema 26).



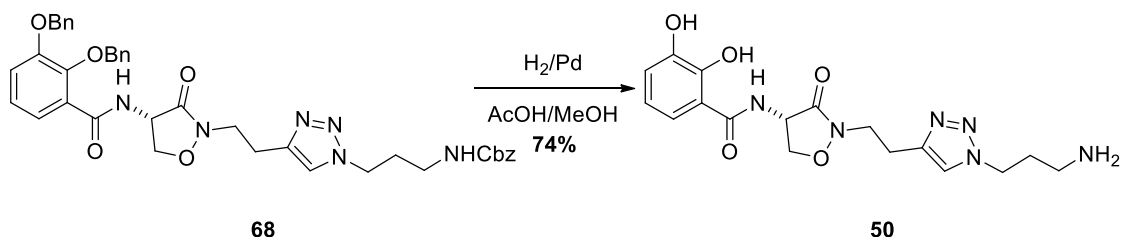
Esquema 26. *Reactivos y condiciones:* (a) CuI, DIPEA, THF (cuantitativo); (b) K_2CO_3 , NaI, CH_3CN (61%).

Una vez obtenido el mesilato **67**, su tratamiento con la amida **52** empleando las mismas condiciones de reacción que en los casos descritos anteriormente, proporcionó el compuesto **68** con un rendimiento del 61%. Su estructura fue confirmada mediante la comparación de sus datos espectroscópicos de RMN con los del compuesto obtenido mediante la ruta A.

Mediante esta ruta se obtuvo el compuesto **68** en dos etapas a partir de **52** con un rendimiento global del 61%, siendo más conveniente la ruta A, ya que el intermedio **68** se obtiene a partir del alquino **63** en un sólo paso y con rendimiento cuantitativo.

El último paso de la secuencia sintética fue la desprotección final de los grupos fenol y amino de **68** mediante su hidrogenación catalítica en medio ácido (Esquema 27). Después de ser purificado por HPLC en fase reversa, se obtuvo el análogo **50** con un rendimiento del 74%. Los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C del producto obtenido confirmaron la eliminación de los grupos bencilo y Cbz al observarse la desaparición de las señales aromáticas correspondientes a dichos grupos, y su espectro (+)-ESIMS de alta

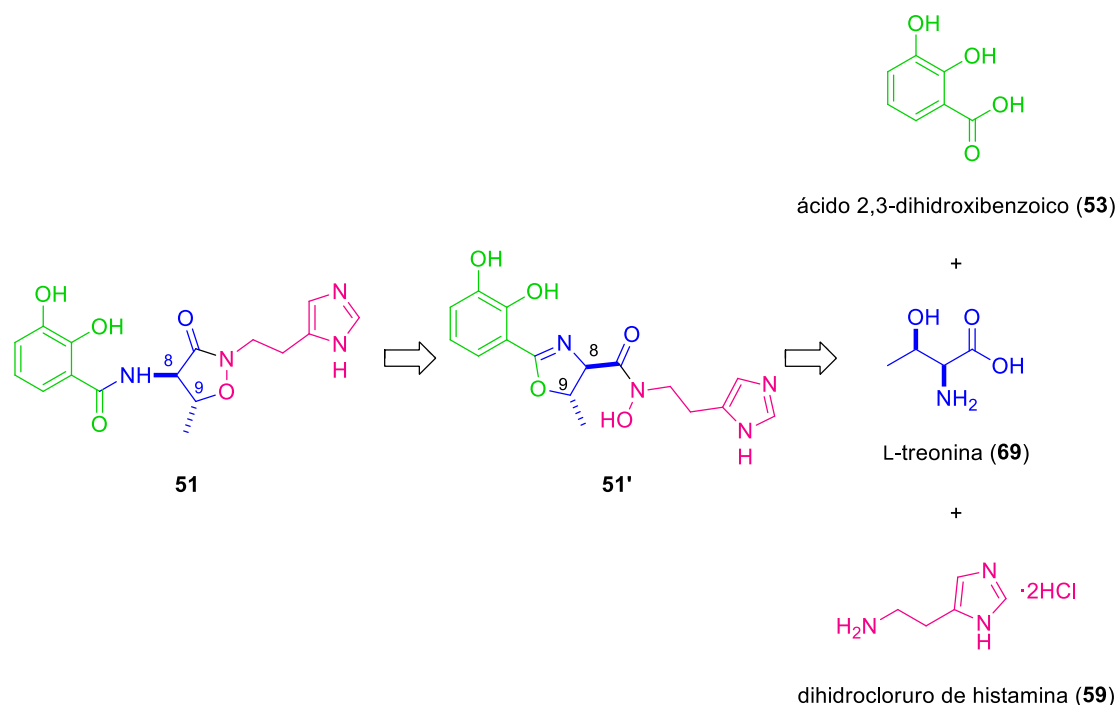
resolución mostró el ión $[M+H]^+$ a m/z 391.1718 (masa calculada para $C_{17}H_{23}N_6O_5$: 391.1724), confirmando la obtención de **50**.



Esquema 27. Síntesis del análogo **50** mediante la hidrogenación catalítica de **68**.

3.2. Síntesis de *ent*-acetobactina (**51**)

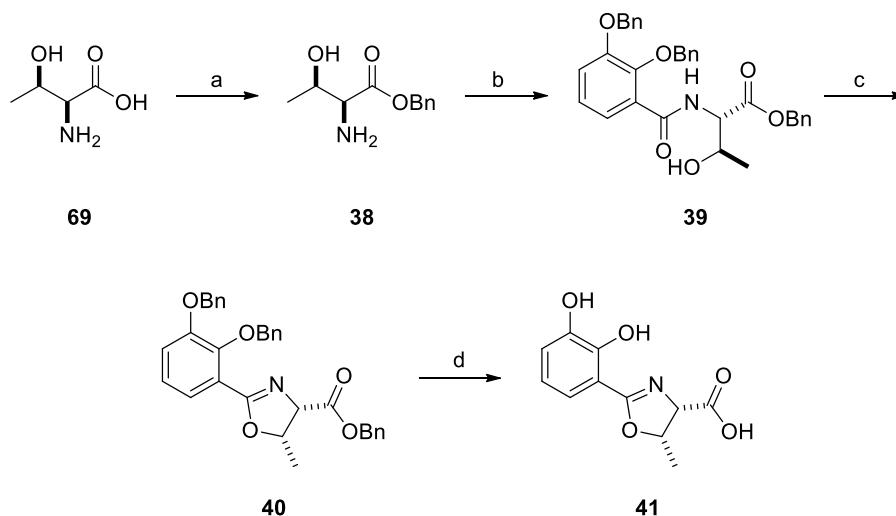
En el análisis retrosintético diseñado para *ent*-acetobactina (**51**) se planteó obtener el intermedio **51'** que mediante una reacción S_N2 intramolecular produciría *ent*-acetobactina, al igual que ocurre con preacetobactina y acetobactina (Esquema 28). La síntesis de **51'** se realizaría mediante la estrategia empleada por Takeuchi y col.⁵³ en la aproximación a la síntesis del epímero de acetobactina, en la que el grupo catecol se obtendría a partir del ácido 2,3-dihidroxibenzoico (**53**), el anillo de imidazol a partir del dihidrocloruro de histamina (**59**), mientras que la configuración absoluta de los centros C-8 y C-9 vendría determinada por la L-treonina (**69**).



Esquema 28. Análisis retrosintético de *ent*-acetobactina (**51**).

La ruta sintética diseñada comenzó con la síntesis del ácido carboxílico **41** a partir de L-treonina (**69**, Esquema 29). El primer paso supuso la esterificación de **69** empleando

ácido *p*-toluensulfónico en alcohol bencílico/tolueno a reflujo, para dar el éster bencílico **38** con un rendimiento del 86%, cuyos datos espectroscópicos coincidieron con los descritos en la bibliografía para este compuesto.⁷²



Esquema 29. *Reactivos y condiciones:* (a) *p*-TsOH, tolueno/BnOH, 120 °C (86%); (b) **24**, TBTU, Et₃N, DMF (65%); (c) SOCl₂, CH₂Cl₂ (93%); (d) H₂, Pd/C, MeOH (96%).

A continuación, se llevó a cabo la preparación de la amida **39** mediante la reacción de acoplamiento entre el ácido **24** y la amina **38**. Con este fin, se probaron una serie de condiciones variando dos parámetros: el agente acoplante y la cantidad de base empleada tal como se muestra en la Tabla 3.

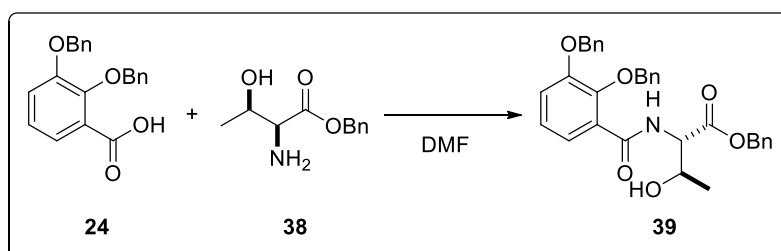
Siguiendo la metodología de Fennel y Miller en la que se utiliza el agente acoplante EDC·HCl y 1.1 equivalentes de base (Entrada 1),⁷³ el rendimiento resultó ser muy bajo (17%). Este rendimiento se consiguió aumentar hasta el 35% cuando además se empleó HOBt (Entrada 2),⁷³ observándose que al aumentar los equivalentes de base el rendimiento disminuía hasta el 25% (Entrada 3). Al cambiar el agente acoplante por TBTU y utilizar 2.5 equivalentes de base (Entrada 5),⁷⁴ se logró un rendimiento del 65% en la obtención de **39**, siendo las condiciones de reacción que dieron mejor resultado.

⁷² Hanessian, S.; Vakiti, R. R.; Dorich, S.; Banerjee, S.; Lecomte, F.; DelValle, J. R.; Zhang, J.; Deschênes-Simard, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3497-3500.

⁷³ Fennel, K. A.; Miller, M. J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1683-1685.

⁷⁴ Soengas, R.; Larrosa, M.; Balado, M.; Rodríguez, J.; Lemos, M. L.; Jiménez, C. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1278-1287.

Tabla 3. Condiciones empleadas para el acoplamiento del ácido **24** con la amina **38** en DMF a temperatura ambiente.



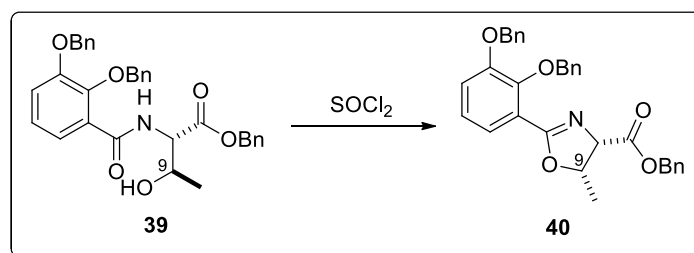
Entrada	Et ₃ N (eq.)	Agente acoplante (1.1 eq.)	Rendimiento (%)
1	1.1	EDC	17
2	1.1	EDC, HOBT	35
3	2.5	EDC, HOBT	25
4	1.1	TBTU	23
5	2.5	TBTU	65

La estructura de **39** se confirmó por RMN de ¹H y ¹³C, así como por espectrometría de masas. El espectro de RMN de ¹H mostró un desplazamiento a mayor frecuencia y un cambio de multiplicidad del protón en α al grupo amino de la treonina bencilada **38** (H-8), resonando como un doblete (*J* = 5.3 Hz) a 3.34 ppm en **38** y como un doblete (*J* = 8.5, 2.8 Hz) a 4.79 ppm en **39**. Además, se observó la aparición de un doblete (*J* = 8.5 Hz) a 8.75 ppm correspondiente al protón del grupo NH, indicando la formación del enlace amida. El espectro (+)-ESIMS de alta resolución confirmó la formación de **39** por la aparición del pico a *m/z* 548.2063 correspondiente al ión [M+H]⁺ (masa calculada para C₃₂H₃₁NO₆Na: 548.2043).

La reacción de ciclación de **39** para formar la oxazolina se llevó a cabo mediante el empleo de cloruro de tionilo en diferentes condiciones de reacción. La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos al variar el número de equivalentes de SOCl₂, la temperatura y el disolvente. Las condiciones que mejor resultado ofrecieron fueron aquéllas en las que se emplearon 6 equivalentes de SOCl₂ en diclorometano a temperatura ambiente,⁷⁵ obteniéndose la 2-oxazolina **40** con un 93% de rendimiento. Cabe destacar que esta reacción ocurre con inversión de la configuración del átomo de carbono que contiene el grupo hidroxilo (C-9).⁷⁶

⁷⁵ Kikkeri, R.; Traboulsi, H.; Humbert, N.; Gumienna-Kontecka, E.; Arad-Yellin, R.; Melman, G.; Elhabiri, M.; Albrecht-Gary, A. M.; Shanzer, A. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 2485-2497.

⁷⁶ (a) Bannard, R. A. B.; Gibson, N. C. C.; Parkkari, *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 2064-2072. (b) Tiecco, M.; Testaferri, L.; Santi, C.; Tomassini, C.; Marini, F.; Bagnoli, L.; Temperini, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3451-3457.

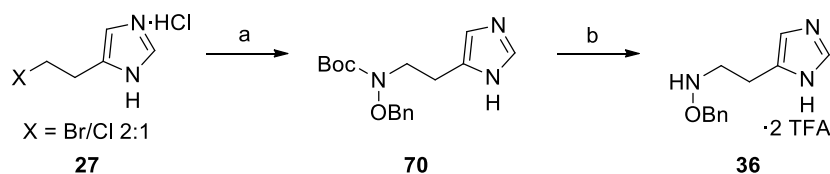
Tabla 4. Condiciones empleadas en la ciclación de **39** empleando SOCl₂.

Entrada	Disolvente	SOCl ₂ (eq.)	T (°C)	Rendimiento (%)
1	CH ₃ CN	1.2	0-25 °C	—
2	CH ₃ CN	3.3	0-25 °C	52
3	CH ₃ CN	6	0-25 °C	40
4	CH ₂ Cl ₂	6	25 °C	93

El espectro de RMN de ¹H del producto obtenido confirmó la obtención de la 2-oxazolina al observarse las señales de los protones H-8 y H-9 con un desplazamiento químico en torno a 5 ppm. Además, los carbonos C-8 y C-9 que resonaban a 68.9 y 58.1 ppm, respectivamente, en el espectro de RMN ¹³C de **39** se desplazaron a mayor frecuencia en el compuesto **40** (77.7 y 71.5 ppm), confirmando la reacción de ciclación y por tanto la formación de **40**.

La hidrogenación catalítica con Pd/C de **40** para eliminar los grupos bencilo (Esquema 29), rindió el ácido carboxílico **41** en un 96% de rendimiento, cuya estructura se confirmó por sus espectros de RMN de ¹H y ¹³C que mostraron la desaparición de las señales correspondientes a los tres grupos bencilo.

Una vez que se confirmó la obtención del ácido carboxílico **41**, el siguiente paso de la secuencia sintética fue la preparación de *O*-benciloxihistamina (**36**) a partir de la mezcla de haluros **27** siguiendo el proceso desarrollado por Takeuchi y col. en la síntesis de acinetobactina (Esquema 30).⁵³

**Esquema 30.** Reactivos y condiciones: (a) NaH, BnONHBoc, DMF, 0 °C a t.a. (63%); (b) TFA/CH₂Cl₂ (1:4) (cuantitativo).

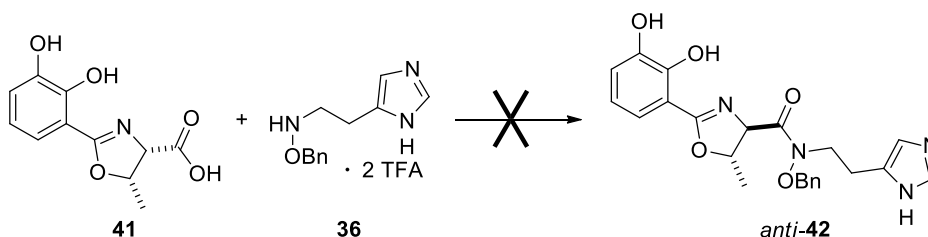
La *N*-alquilación de **27**, compuesto obtenido anteriormente a partir del dihidrocloruro de histamina (Esquema 14), con *N*-*tert*-butoxicarbonil-*O*-benciloxiamina

empleando hidruro sódico en DMF a 0 °C,⁷⁷ permitió obtener la hidroxilamina protegida **70** con un 63% de rendimiento.

Su espectro de RMN de ¹H confirmó la sustitución de los halógenos por el grupo amino protegido, al mostrar la aparición de dos singuletes a 1.44 y 4.83 ppm correspondientes a los metilos del grupo *tert*-butoxicarbonilo y a los protones bencílicos, respectivamente. Adicionalmente en el espectro de RMN de ¹³C de **70** se observó la desaparición de las señales de los carbonos *sp*³ a 42.7/30.7 y 27.3/27.2 ppm, correspondientes a C-1 y C-2 de los derivados clorado y bromado **27**, respectivamente, con la consecuente aparición de las señales a 49.4 y 24.2 ppm en **70**.

La eliminación del grupo protector *tert*-butoxicarbonilo en medio ácido, condujo a la hidroxilamina **36** con rendimiento cuantitativo, cuyo espectro de RMN de ¹H mostró la desaparición del singlete a 1.44 ppm, correspondiente al grupo *tert*-butilo.

A continuación, siguiendo la metodología empleada por Takeuchi y col. en la que los autores logran la obtención del bencilhidroxamato *anti*-**42** (Esquema 4),⁵³ se ensayó sin éxito el acoplamiento del ácido carboxílico **41** con la hidroxilamina protegida **36** empleando EDC·HCl y HOBt en DMF (Esquema 31).



Esquema 31. *Reactivos y condiciones:* EDC·HCl, HOBt·H₂O, DMF.

Se realizaron numerosos intentos para conseguir el producto utilizando diversos agentes acoplantes como TBTU,⁷⁸ CDI,⁷⁹ PyBrop⁸⁰ o DCC⁸¹ y empleando diferentes tipos de bases (Et₃N, Piridina, DMAP o HOBt), dando todos ellos resultados infructuosos.

En vista a estos resultados, se postuló que este acoplamiento no se produce debido a la presencia de los grupos hidroxilo fenólicos libres. Por lo que se propuso introducir en el catecol un grupo protector que fuese ortogonal al bencilo, es decir, un grupo que resista las condiciones de hidrogenación empleadas en la obtención del ácido carboxílico. El grupo *iso*-propilo cumple estas condiciones siendo utilizado exitosamente

⁷⁷ Grigg, R.; Rankovic, Z.; Thoroughgood, M. *Tetrahedron* **2000**, 56, 8025-8032.

⁷⁸ Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W.; Gillessen, D. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927-1930.

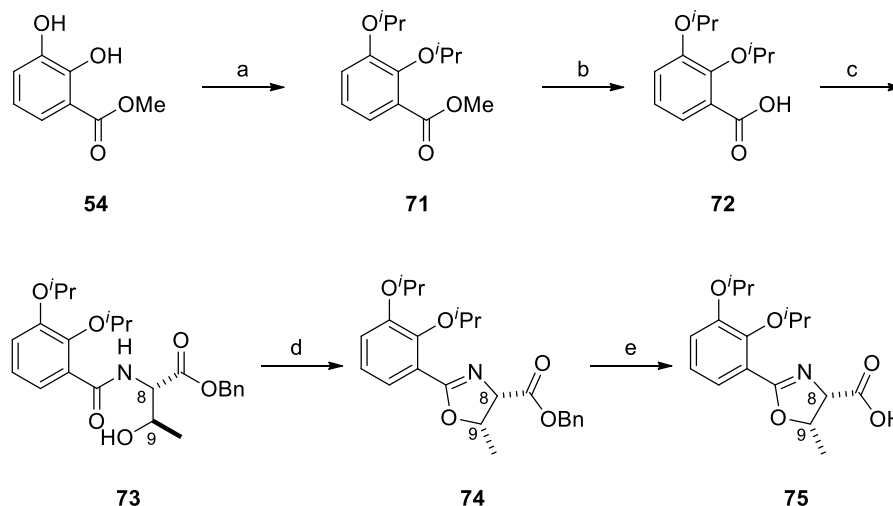
⁷⁹ Huang, F.; Shoupe, T. S.; Lin, C. J.; Lee, T.; Chan, W.; Tan, J.; Schnapper, M.; Suh, J. T.; Gordon, R. J.; Sonnino, P. A.; Sutherland, C. A.; Van Inwegen, R. G.; Coutts, S. M. *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1836-1842.

⁸⁰ Coste, J.; Frerot, E.; Jouin, P. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2437-2446.

⁸¹ Han, S.; Kim, Y. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447-2467.

en nuestro grupo de investigación en la síntesis de diversos análogos del sideróforo vancrobactina.³⁷

La nueva estrategia para la síntesis de *ent*-acinetobactina (**51**) a partir del éster **54**, comenzó con la obtención del ácido carboxílico **75** con sus grupos fenol protegidos como éteres de *iso*-propilo (Esquema 32).



Esquema 32. Reactivos y condiciones: (a) $i\text{PrBr}$, K_2CO_3 , KI , DMF, 50 °C (97%); (b) $\text{Ba}(\text{OH})_2$, THF/ H_2O , 50 °C (95%); (c) L-Thr-OBn (**38**), TBTU, Et_3N , DMF (64%); (d) SOCl_2 , CH_2Cl_2 (93%); (e) H_2 , Pd/C , MeOH (96%).

La protección del grupo catecol de **54** con bromuro de *iso*-propilo empleando carbonato potásico y yoduro potásico en DMF a 50 °C,⁸² condujo al compuesto **71** con un 97% de rendimiento, cuya hidrólisis con hidróxido de bario en THF/ H_2O a 50 °C dio lugar al ácido carboxílico requerido **72** con un rendimiento del 95%. El acoplamiento de este ácido con la amina **38** empleando TBTU y Et_3N en DMF, rindió la amida **73** con un rendimiento del 64%. En su espectro ^1H -RMN se observó un desplazamiento a mayor frecuencia (4.88 ppm) del protón en α al nitrógeno (H-8) respecto a la amina **38**, y la aparición de un doblete ($J = 8.3$ Hz) a 8.94 ppm correspondiente al protón del grupo NH. La formación del enlace amida se confirmó también por la señal del carbonilo a 170.9 ppm que aparece en su espectro de RMN de ^{13}C y por su espectro (+)-ESIMS de alta resolución que mostró el ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 452.2041 (masa calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_6\text{Na}$: 452.2043), indicando la formación del producto.

La ciclación de **73** empleando las mismas condiciones de reacción que en la síntesis de **41**, condujo a la 2-oxazolina **74** con elevado rendimiento (93%), cuyo espectro de RMN de ^1H mostró el desplazamiento de las señales de los protones H-8 y H-9 a mayor frecuencia, en torno a 5 ppm. La formación de la oxazolina se confirmó por el

⁸² Sargent, M. V. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 11, 2553-2563.

desplazamiento a mayor frecuencia (77.7 ppm) de la señal asignada C-9 en su espectro de RMN de ^{13}C .

La eliminación del grupo bencilo del éster **74** permitió obtener el ácido carboxílico **75** con un 96% de rendimiento, cuyo espectro de RMN de ^1H mostró la separación de los protones H-8 y H-9 a 3.94 y 5.67 ppm, respectivamente, así como la desaparición de las señales del grupo bencilo. Su espectro (+)-HR-ESIMS confirmó la estructura de **75** al mostrar el pico a m/z 322.1666 correspondiente al ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ (masa calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{NO}_5$: 322.1648). En cuanto a la estereoquímica de este producto, se dedujo por la presencia de los picos de cruce entre los protones H-9 y H-10 en su espectro de 2D-RMN NOESY indicando una disposición *sin* de los mismos (Figura 23).

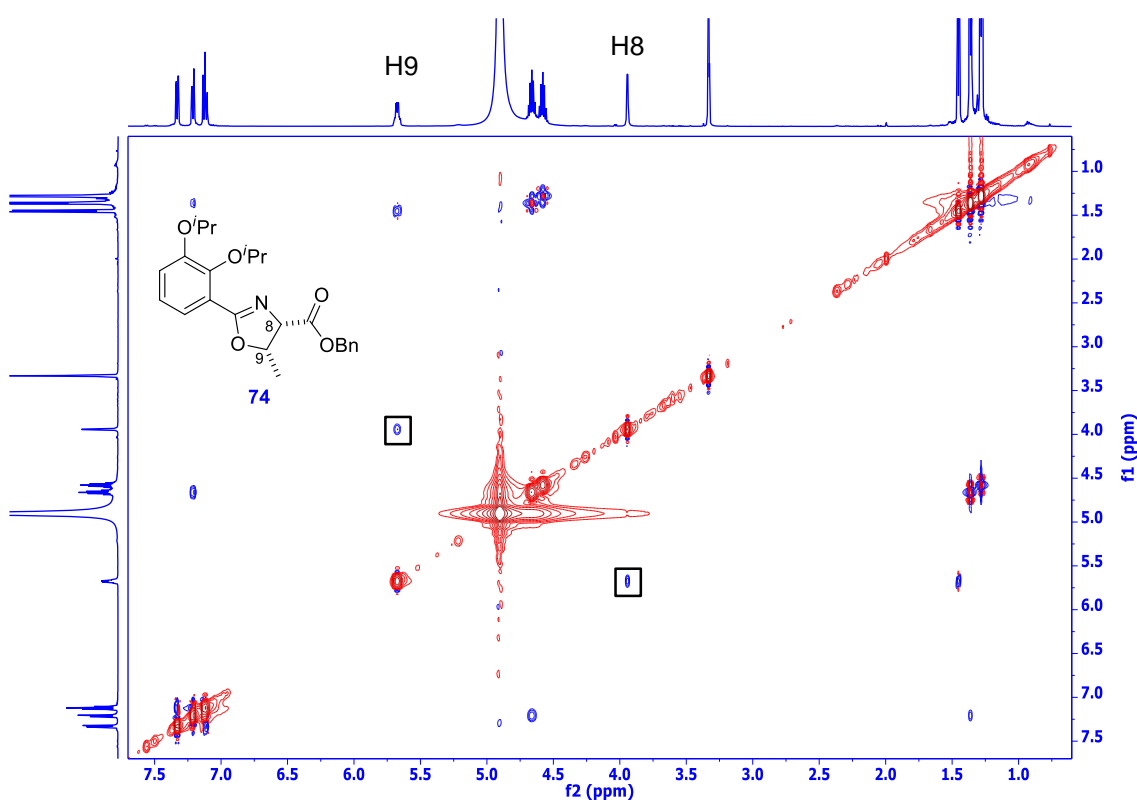


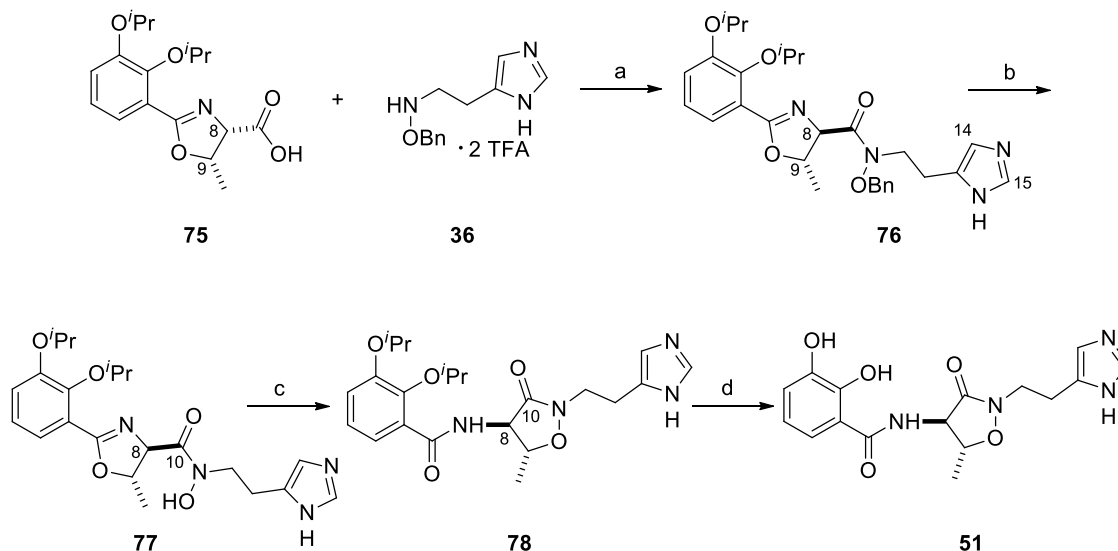
Figura 23. Espectro ^1H - ^1H NOESY de **75** (500 MHz, CD_3OD).

Los últimos pasos para llegar al producto deseado se muestran en el Esquema 33. El acoplamiento del ácido carboxílico **75** con la amina **36** en DMF para obtener la amida **76** se llevó a cabo de dos formas diferentes. Empleando el agente acoplante EDC·HCl y HOBT⁸³ se consiguió un rendimiento del 43%, mientras que con CDI y en ausencia de base,⁸⁴ se logró mejorar el rendimiento (69%). El éxito de esta reacción de acoplamiento

⁸³ Margulies, D.; Felder, C. E.; Melman, G.; Shanzer, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 347-354.

⁸⁴ Brücher, K.; Illarionov, B.; Held, J.; Tschan, S.; Kunfermann, A.; Pein, M. K.; Bacher, A.; Gräwert, T.; Maes, L.; Mordmüller, B.; Fischer, M.; Kurz, T. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6566-6575.

se debe a la presencia del grupo catecol protegido ya que como se vio anteriormente, cuando los hidroxilos están libres no se observa la formación del producto deseado.



Esquema 33. *Reactivos y condiciones:* (a) CDI, DMF (69%); (b) H₂, Pd/C, MeOH (95%); (c) MeOH, Δ (87%); (d) BCl₃, CH₂Cl₂ -78 °C a -40 °C (81%).

La estructura de **76** se confirmó utilizando técnicas de RMN de ¹H, ¹³C y DEPT-135. El espectro de ¹H mostró la aparición de dos singuletes a 8.75 y 7.36 ppm, asignados a los protones H-15 y H-14 del imidazol, y el desplazamiento del doblete correspondiente al protón en α al carbonilo (H-8) a 4.46 ppm. La formación del grupo amida se observó por la señal del carbono a 168.0 ppm que aparece en su espectro de RMN de ¹³C. Por otro lado, el espectro de masas (+)-ESI de alta resolución confirmó la obtención del compuesto al mostrar el ión [M+H]⁺ a *m/z* 521.2742 (masa calculada para C₂₉H₃₇N₄O₅: 521.2758). En cuanto a la configuración relativa de los centros C-8 y C-9, fue determinada mediante su espectro de RMN bidimensional NOESY al no observarse interacción NOE entre las señales de los protones H-8 y H-9, indicando por tanto, una disposición *anti* de los mismos. El hecho de que este acoplamiento ocurra con inversión de configuración en la posición C-8, es debido a que se produce una epimerización de este centro en α al carbonilo para dar el isómero *anti* que es estéricamente más estable que el isómero *sin*. Este resultado aparece reflejado también en el trabajo de Takeuchi y col. durante la síntesis del compuesto *anti*-**42** (Esquema 4).⁵³

La eliminación del grupo bencilo mediante hidrogenación catalítica usando paladio/carbón en metanol condujo al hidroxamato **77** con un rendimiento del 95%, cuyo tratamiento con metanol a reflujo proporcionó la isoxazolidinona requerida **78** con un 87% de rendimiento. La formación del anillo de isoxazolidinona se confirmó al observarse el desplazamiento químico a menos frecuencia de la señal correspondiente al protón H-9 en su espectro ¹H-RMN. Adicionalmente su espectro de RMN de ¹³C

confirmó la reacción S_N2 intramolecular al mostrar el desplazamiento a mayor frecuencia de las señales de los carbonos C-8, C-9 y C-10.

Finalmente, la eliminación de los grupos protectores *iso*-propilo de **78** con tricloruro de boro en diclorometano a baja temperatura, condujo a *ent*-acinetobactina (**51**) con un 81% de rendimiento, tras su purificación por HPLC en fase reversa.

Como se mostrará en el siguiente apartado, los datos espectroscópicos de RMN de **51** coincidieron con los obtenidos para el compuesto natural **22b**, confirmando su obtención. Adicionalmente, la espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución también confirmó la estructura de *ent*-acinetobactina al mostrar el ión $[M+H]^+$ a m/z 347.1361 (masa calculada para $C_{16}H_{19}N_4O_5$: 347.1349).

El rendimiento global obtenido en la preparación de *ent*-acinetobactina (**51**) tras 9 etapas sintéticas a partir de 2,3-dihidroxibenzoato de metilo (**54**) fue del 24%.

3.2.1. Comparación entre acinetobactina (**22b**) y *ent*-acinetobactina (**51**)

Para poder comparar *ent*-acinetobactina con el producto natural, se realizó acinetobactina de las cepas de *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*.⁸⁵ Debido al empleo de ácido trifluoroacético en la fase móvil durante la purificación mediante HPLC tanto de acinetobactina (**22b**) como de *ent*-acinetobactina (**51**), ambos compuestos se aislaron como sales de amonio, en los que el contraión es un grupo trifluoroacetato (Figura 24).

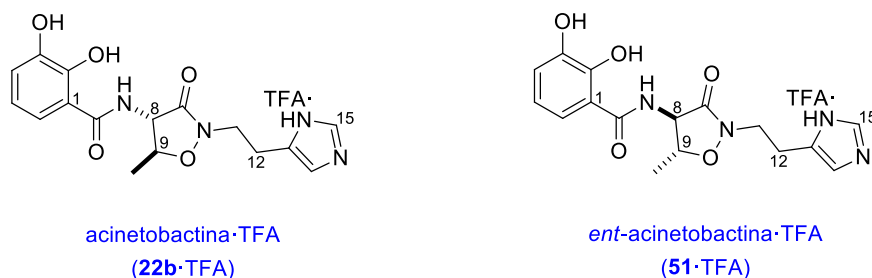


Figura 24. Acinetobactina natural y *ent*-acinetobactina aislados como sales de amonio.

En las Tabla 5 y 6 se muestran los datos espectroscópicos de RMN obtenidos para acinetobactina·TFA (**22b**·TFA) y *ent*-acinetobactina (**51**·TFA). Hay que hacer notar que al aislarse como sales de amonio, estos valores difieren ligeramente a los publicados para el producto con la amina libre (**22b**),⁴⁸ debido a la protonación del anillo de imidazol.

⁸⁵ Balado, M.; Souto, A.; Vences, A.; Careaga, V. P.; Valderrama, K.; Segade, Y.; Rodríguez, J.; Osorio, C. R.; Jiménez, C.; Lemos, M. L. *ACS Chem. Biol.* **2015**, DOI: 10.1021/acschembio.5b00624.

Tabla 5. Datos de RMN ^1H (δ_{H} , multiplicidad, J en Hz) a 500 MHz en CD_3OD de acinetobactina natural publicados en la referencia 48 (**22b**) y sales de acinetobactina (**22b**·TFA) y *ent*-acinetobactina (**51**·TFA).

Protón	22b*	22b.TFA	51.TFA
1	—	—	—
2	—	—	—
3	—	—	—
4	6.99 dd (8.0, 1.5)	6.90 dd (7.8, 1.5)	6.91 dd (7.7, 1.0)
5	6.77 t (8.0)	6.68 t (8.0)	6.68 t (7.9)
6	7.29 dd (8.0, 1.5)	7.18 dd (8.1, 1.5)	7.18 dd (8.1, 1.0)
7	—	—	—
8	4.76 d (11.0)	4.53 (m)	4.53 (m)
9	4.51 dc (10.5, 6.0)	4.53 (m)	4.53 (m)
10	—	—	—
11a	3.91 m	3.84 dt (14.8, 6.1)	3.85 dt (14.7, 6.5)
11b	3.91 m	3.97 dt (14.8, 6.5)	3.94 dt (14.8, 6.5)
12	3.03 m	3.07 t (6.5)	3.07 t (6.5)
13	—	—	—
14	7.06 s	7.41 s	7.41 s
15	7.86 s	8.78 s	8.78 s
Me	1.50 d (6.0)	1.40 d (5.5)	1.40 d (5.4)

Tabla 6. Datos de RMN ^{13}C (δ_{C}) a 125 MHz en CD_3OD de acinetobactina natural (**22b**), sal de acinetobactina (**22b**·TFA) y *ent*-acinetobactina (**51**·TFA).

Carbono	multiplicidad	22b	22b.TFA	51.TFA
1	C	115.2	116.3	116.3
2	C	149.4	150.2	150.2
3	C	146.4	147.4	147.4
4	CH	119.1	120.2	120.2
5	CH	118.7	119.9	119.9
6	CH	117.9	119.0	119.0
7	C	170.8	171.7	171.7
8	CH	58.1	59.5	59.4
9	CH	79.2	79.7	79.7
10	C	167.7	169.1	169.1
11	CH_2	45.0	44.8	44.9
12	CH_2	24.0	23.2	23.2
13	C	133.8	132.0	132.0
14	CH	116.9	118.2	118.2
15	CH	135.1	135.0	135.0
Me	CH_3	16.1	17.1	17.2

En la Figura 25 se muestra como los espectros de RMN de ^1H en CD_3OD del producto sintético **51**·TFA y del producto natural **22b**·TFA son idénticos.

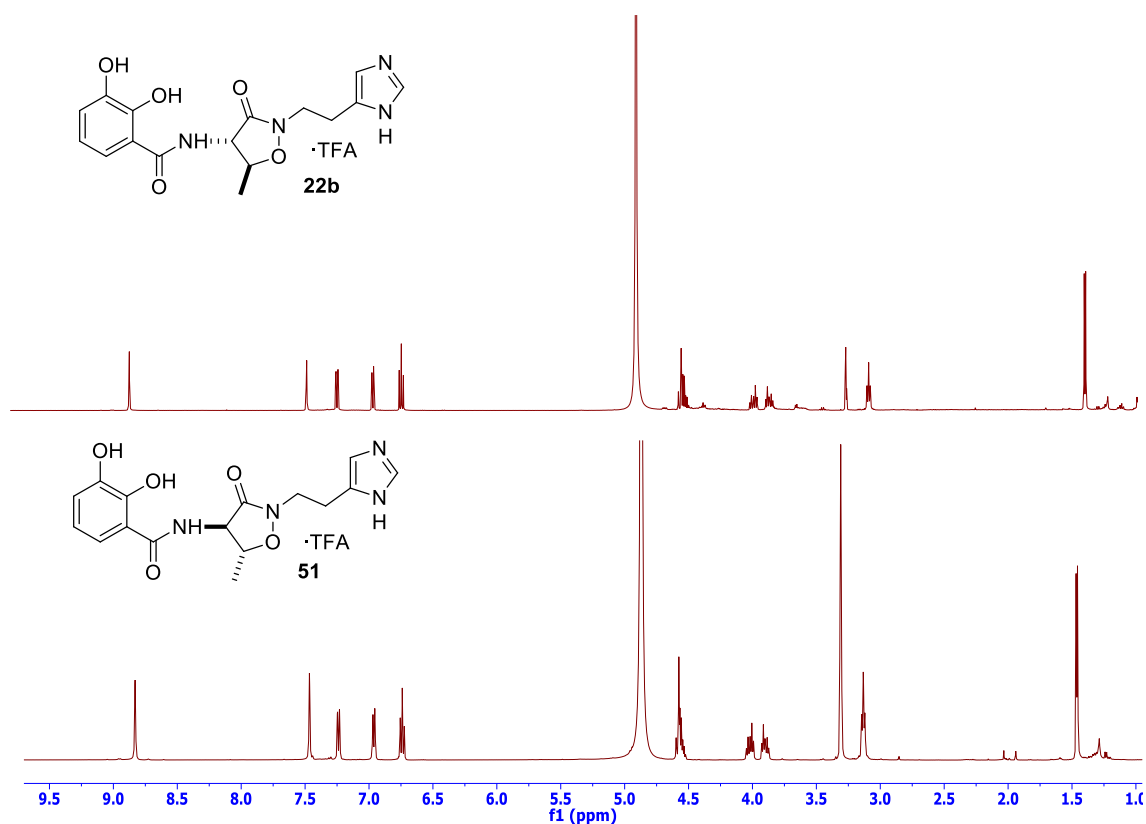


Figura 25. Comparación entre los espectros de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de acinetobactina (**22b**·TFA) y *ent*-acinetobactina (**51**·TFA).

En relación a la estereoquímica, la configuración absoluta de **51** se confirmó mediante su espectro de dicroísmo circular (CD) y su rotación óptica específica.

La estereoquímica absoluta de **51** se determinó por comparación de su espectro de dicroísmo circular (CD) con el espectro del producto natural **22b**. Los espectros de UV de los dos compuestos mostraron máximos de absorción a 210, 248 y 320 nm. Como se puede observar en las Figuras 26 y 27, las curvas de CD de los dos compuestos son comparables porque los máximos y mínimos se dan a las mismas longitudes de onda, concretamente entre 210-230 nm. La curva obtenida para acinetobactina (**22b**) es opuesta a la del producto sintetizado **51**, indicando que la configuración de los centros quirales es opuesta.

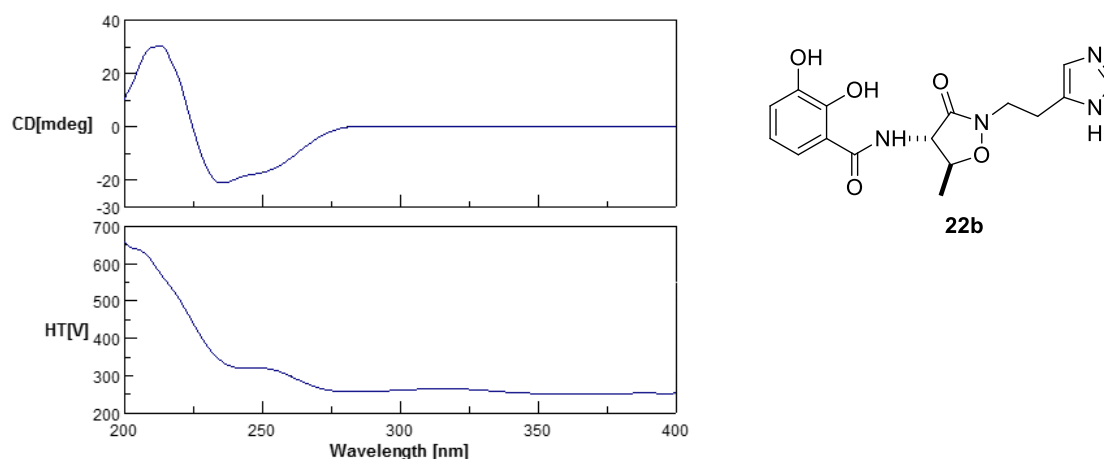


Figura 26. Espectro de CD ($\Delta\epsilon/\text{cm}^2\text{mol}$ vs λ (nm)) de acinetobactina (**22b**) en CH_3OH .

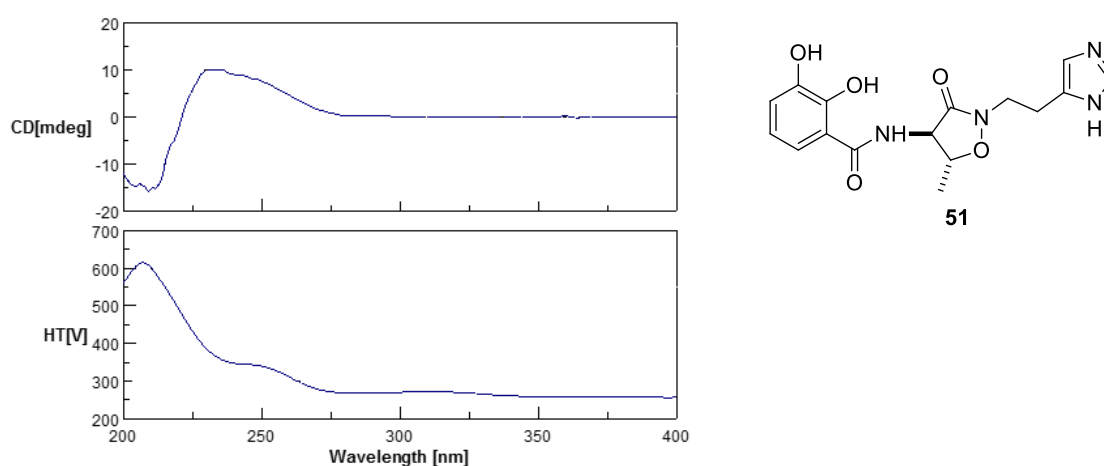


Figura 27. Espectro de CD ($\Delta\epsilon/\text{cm}^2\text{mol}$ vs λ (nm)) de *ent*-acinetobactina (**51**) en CH_3OH .

El compuesto natural **22b** presentó un efecto Cotton positivo a 210 nm y otro negativo a 230 nm, mientras que el análogo sintético **51** presentó efectos Cotton opuestos a las mismas longitudes de onda, confirmando la configuración absoluta de los dos estereocentros de **51** (8*S*,10*S*). Estos resultados están de acuerdo con los valores obtenidos de su rotación óptica específica, siendo similares pero de signos puestos, confirmando nuevamente, que ambos productos son enantiómeros (Tabla 7).

Tabla 7. Comparación de los valores de la rotación óptica específica y de los datos de CD obtenidos para acinetobactina (**22b**) y *ent*-acinetobactina (**51**) en CH_3OH .

acinetobactina (22b)		<i>ent</i> -acinetobactina (51)	
$[\alpha]_D$	CD (mdeg)	$[\alpha]_D$	CD (mdeg)
$c = 0.65, \text{CH}_3\text{OH}$	$10^{-3} \text{ M}, \text{CH}_3\text{OH}$	$c = 0.60, \text{CH}_3\text{OH}$	$10^{-2} \text{ M}, \text{CH}_3\text{OH}$
	+30 (210 nm)		-15 (210 nm)
-29.7	-20 (230 nm)	+22.0	+10 (230 nm)

Después de realizar todas estas pruebas, adicionalmente se realizó una coelución en HPLC de acinetobactina natural (**22b**) y de *ent*-acinetobactina sintética (**51**) en la misma concentración. Como se muestra en la Figura 28 ambos compuestos presentan el mismo tiempo de retención, confirmando por tanto que son enantiómeros.

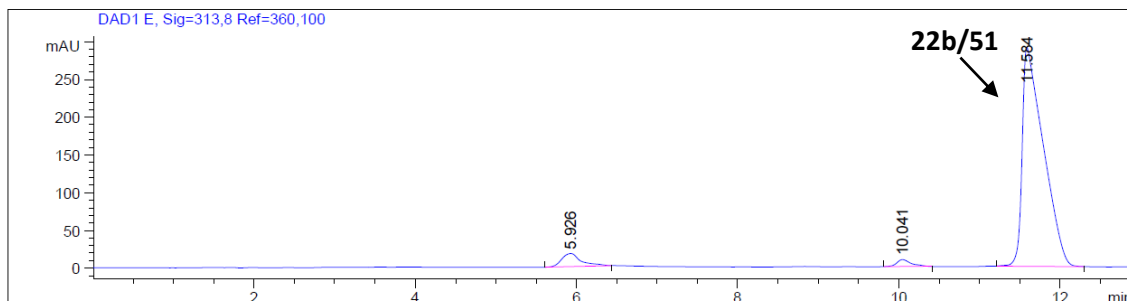


Figura 28. Cromatograma de HPLC a $\lambda = 313$ nm correspondiente a la coelución de **22b** y **51** en la misma concentración.

4. BIOENSAYOS Y RELACIONES ESTRUCTURA-ACTIVIDAD SIDERÓFORA

En este apartado se mostrarán los estudios de la actividad siderófora de los análogos estructurales de acinetobactina (**47-50**) comparándola con la de acinetobactina natural (**22b**), aislada a partir de cultivos de *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* en déficit de hierro (medio mínimo CM9 suplementado con 35 μM de 2,2'-dipiridilo). Estas pruebas fueron realizadas en colaboración con el grupo de investigación que coordina el Profesor Manuel L. Lemos del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela.

Los experimentos de restauración del crecimiento de la bacteria con acinetobactina y sus análogos se realizaron en placas de 96 pocillos al incubar *A. salmonicida* en diferentes condiciones de disponibilidad de hierro. Para ello se realizaron cultivos líquidos en medio mínimo CM9 (100 μL) suplementado con concentraciones de quelante de hierro que oscilaron entre 28-250 μM de 2,2'-dipiridilo. Finalmente, a estos cultivos se les añadió 1 μg de acinetobactina (**22b**) o un análogo (**48**, **49**, **47** ó **50**). Los cultivos se incubaron a 25 °C y 100 rpm durante 20 h. Transcurrido ese periodo de incubación, se registró el crecimiento celular alcanzado al medir la absorbancia a 600 nm.

En los primeros experimentos de promoción del crecimiento en déficit de hierro, se utilizó la cepa salvaje *A. salmonicida* RSP74.1 como control. Esta cepa produce y utiliza acinetobactina al tener activos tanto los genes de síntesis (*asbABCD*) como del receptor (*fstB*) de acinetobactina. Posteriormente, se comparó la capacidad de crecimiento de la cepa salvaje con las de las mutantes MON15, que no produce acinetobactina ($\Delta asbD$), y MB201, que ni sintetiza ni utiliza acinetobactina como fuente de hierro al carecer de su receptor ($\Delta asbD\Delta fstB$).

Los análogos sintetizados los dividimos en dos grupos:

A) Análogos de acinetobactina desmetilados

o Actividad en la cepa salvaje (RSP74.1)

En estos experimentos se utilizaron como controles de crecimiento cultivos de la cepa RSP74.1 en CM9 con concentraciones de 2,2'-dipiridilo que oscilaron entre 250 y 78 μM . Como se puede observar en la Figura 29, la cepa RSP74.1 no es capaz de crecer en concentraciones de 2,2'-dipiridilo superiores a 100 μM . Sin embargo, cuando al medio de cultivo se le añade 1 μg de acinetobactina, esta cepa es capaz de crecer en concentraciones de hasta 180 μM . El aumento en la MIC del agente quelante es consecuencia de que la cepa RSP74.1 utiliza acinetobactina como fuente de hierro.

En cuanto a la actividad siderófora de los análogos, como se muestra la Figura 29, todos inducen en mayor o menor medida el crecimiento de la cepa RSP74.1. Sin embargo, hay diferencias claras en la actividad de los compuestos. Mientras que los compuestos **47**, **48** y **49** inducen el crecimiento de la cepa salvaje de igual modo que acinetobactina natural, el compuesto **50** lo hace en menor medida.

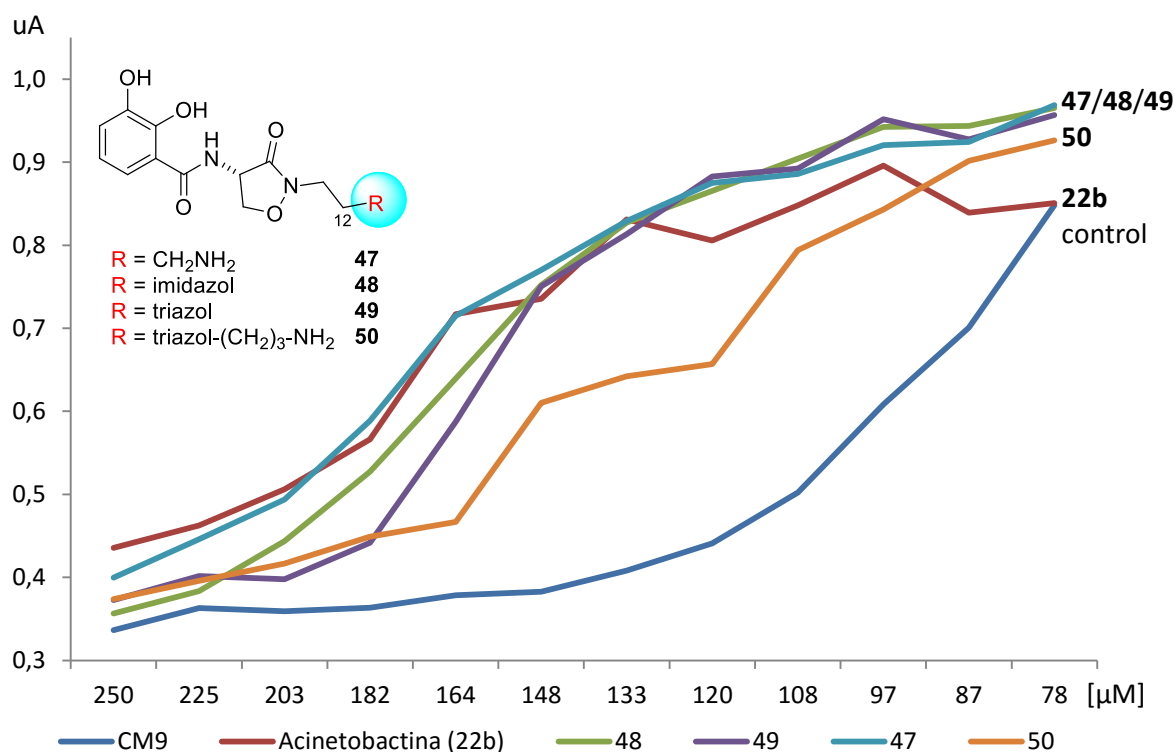


Figura 29. Crecimiento alcanzado por la cepa RSP74.1 (eje Y, A₆₀₀) cultivada en medio CM9 con diferentes concentraciones de 2,2'-dipiridilo (eje X). Los cultivos fueron suplementados con 1 µg de acinetobactina (**22b**) o análogo (**47-50**).

Estos resultados indicarían que los compuestos sintetizados se comportan de manera similar que el sideróforo natural, ya que sus respectivas líneas están por encima de la línea control, y por tanto se podría afirmar que todos poseen actividad siderófora. Sin embargo, es importante determinar si ese análogo estructural de acinetobactina es reconocido por el receptor FstB. Para determinar si hay reconocimiento molecular por el receptor de acinetobactina, se repitieron estos experimentos con dos cepas mutantes que no producen acinetobactina.

○ Actividad en las cepas mutantes MON15 y MB201

Tanto la cepa MON15 como la MB201 tienen una MIC de 2-2'-dipiridilo de 35-40 µM de dipiridilo, es decir, no son capaces de crecer a una concentración del agente quelante mucho menor que la cepa salvaje (100 µM).

La gráfica de crecimiento de la cepa MON15, que no produce acinetobactina pero si se la añade al medio de cultivo es capaz de utilizarla ya que contiene el receptor FstB, muestra como los compuestos **47** y **50** no restauran el crecimiento de esta cepa mutante, ya que sus respectivas líneas están por debajo de la línea de crecimiento control (Figura 30). Por el contrario, **48** y **49** son capaces de restaurar dicho crecimiento mostrando por tanto, actividad siderófora frente a esta cepa mutante.

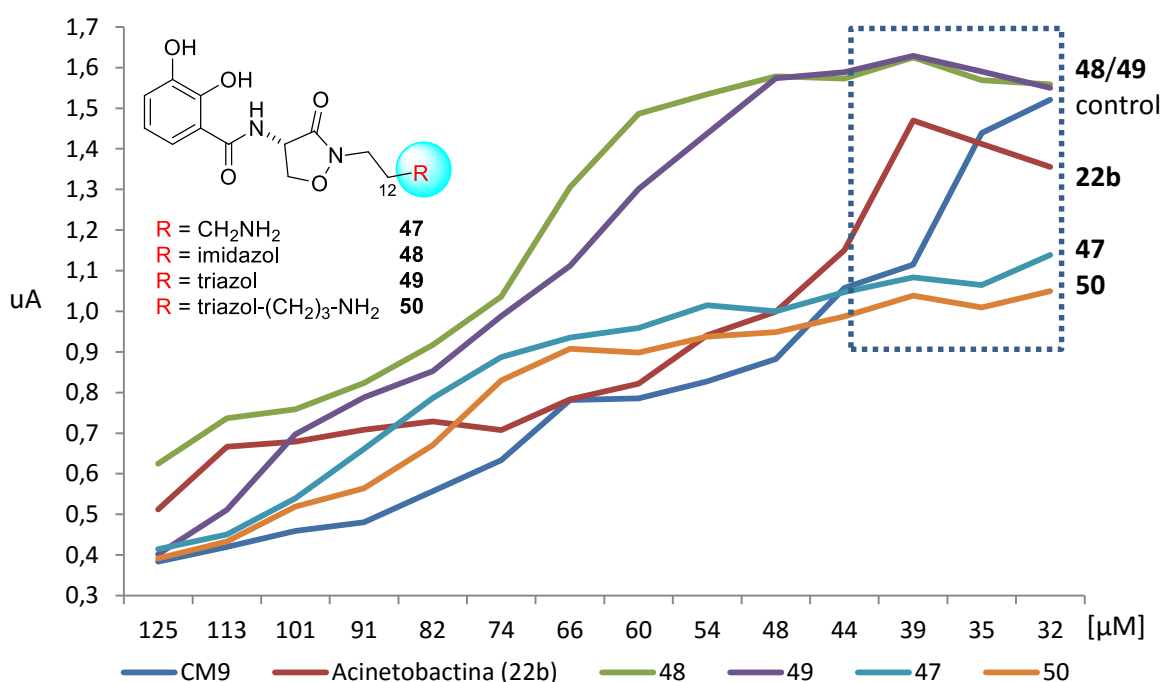


Figura 30. Crecimiento alcanzado por la cepa MON15 (eje Y, A₆₀₀) cultivada en medio CM9 con diferentes concentraciones de 2,2'-dipiridilo (eje X). Los cultivos fueron suplementados con 1 μg de acinetobactina (**22b**) o análogo (**47-50**).

Por otro lado, la gráfica de crecimiento de la cepa MON201, que no puede utilizar acinetobactina ya que carece de su receptor FstB, muestra como **48** y **49** continúan restaurando el crecimiento de la cepa mutante (Figura 31), indicando que ambos compuestos usan como “puerta de entrada” un receptor diferente al utilizado por acinetobactina. Es decir, estos compuestos no están usando el receptor de acinetobactina para introducir hierro dentro de la cepa mutante.

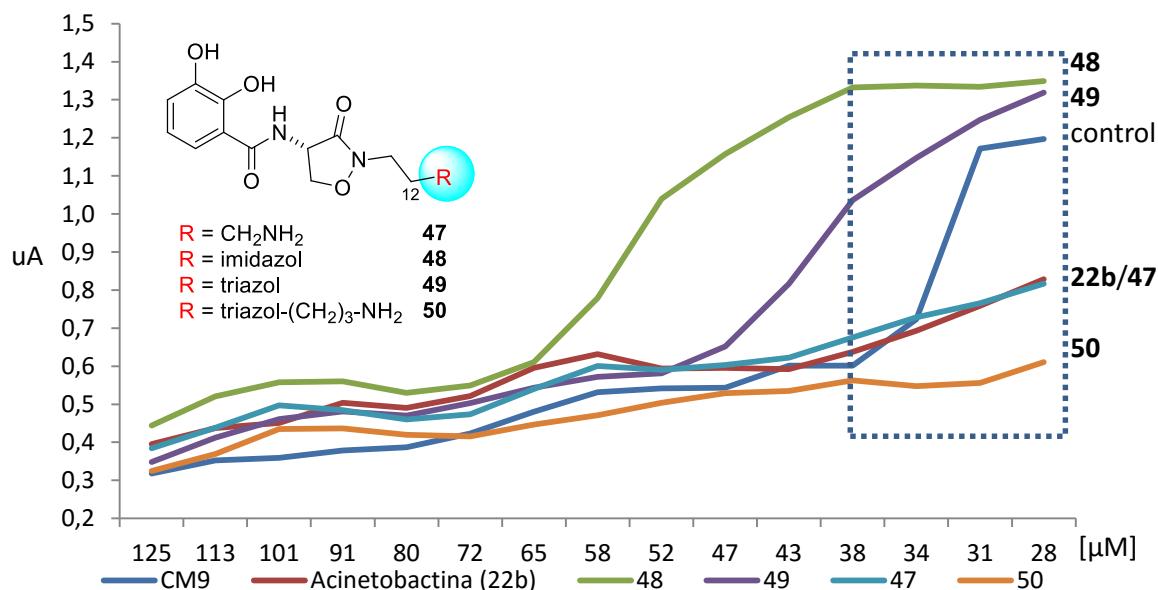


Figura 31. Crecimiento alcanzado por la cepa MB201 (eje Y, A₆₀₀) cultivada en medio CM9 con diferentes concentraciones de 2,2'-dipiridilo (eje X). Los cultivos fueron suplementados con 1 µg de acinetobactina (**22b**) o análogo (**47-50**).

En resumen, si se comparan las gráficas de crecimiento de las cepas mutantes MON15 (Figura 30) y MB201 (Figura 31), se observa que **47** y **50** no poseen actividad siderófora frente a las cepas mutantes, ya que no inducen su crecimiento. Los compuestos **48** y **49** aunque poseen dicha actividad, no emplean el receptor de acinetobactina como “puerta de entrada”, ya que restauran el crecimiento de la cepa que no posee la proteína receptora de acinetobactina. Se concluye por tanto que:

- La presencia del anillo de imidazol o triazol en la posición C-12 en los derivados desmetilados es esencial para que presenten actividad siderófora en las cepas mutantes, ya que **47**, con un grupo metilamino, y **50**, con un anillo de triazol sustituido, resultaron ser inactivos (Figura 32).
- La presencia del grupo metilo en la posición C-9 del anillo de isoxazolidinona parece ser esencial para que los análogos sean reconocidos por la proteína receptora de acinetobactina, ya que los análogos **48** y **49** carentes de dicho metilo, no están utilizando el receptor de acinetobactina como “puerta de entrada” (Figura 32).

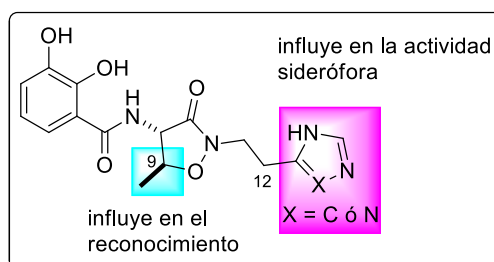


Figura 32. Relaciones estructura-actividad siderófora.

B) Enantiómero de acinetobactina

○ Actividad en la cepa salvaje (RSP74.1)

En la Figura 33 se muestran los crecimientos alcanzados de *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* en diferentes concentraciones de 2,2'-dipiridilo (de 60 a 28 μM) añadiéndole al medio acinetobactina (**22b**), *ent*-acinetobactina (**51**) o nada (control).

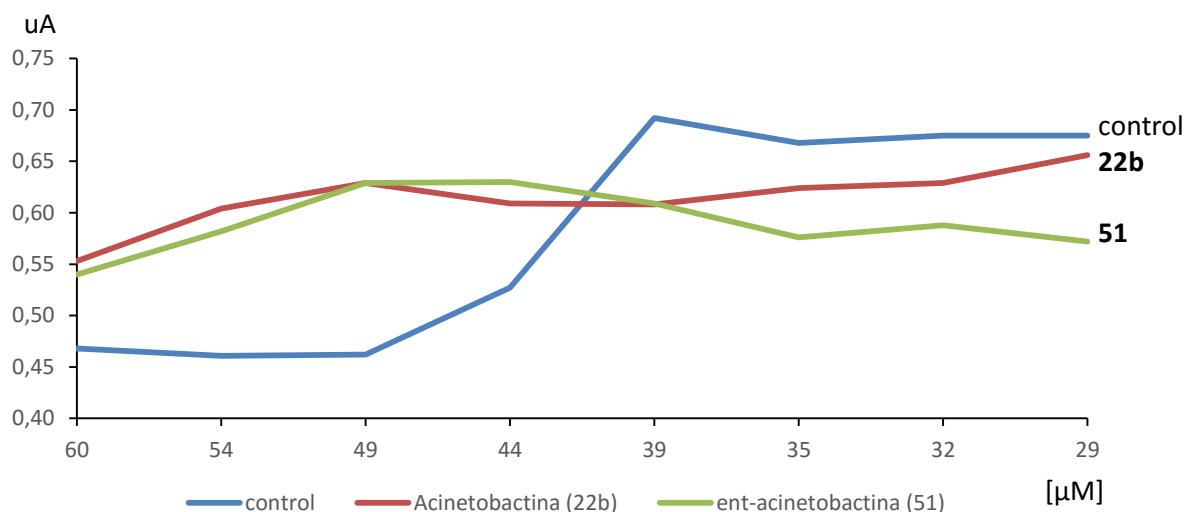


Figura 33. Crecimiento alcanzado por la cepa RSP74.1 tras 20 h de incubación añadiendo 1 μg de acinetobactina (**22b**) o *ent*-acinetobactina (**51**).

Como se puede ver, cuando al medio de cultivo se le añade acinetobactina (**22b**) o su enantiómero (**51**), la MIC del agente quelante aumenta de 43 μM a algo más de 60 μM , deduciéndose por tanto, que ambos compuestos inducen el crecimiento de *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*.

Pero para saber si *ent*-acinetobactina es reconocido por el receptor de acinetobactina FstB, al igual que en el caso anterior, se repitieron los experimentos con dos cepas de *A. salmonicida* mutantes.

○ Actividad en las cepas mutantes MON15 y MB201

En la Figura 34 se muestra la gráfica de crecimiento de las cepas mutantes MON15 y MB201 tras 20 h de incubación.

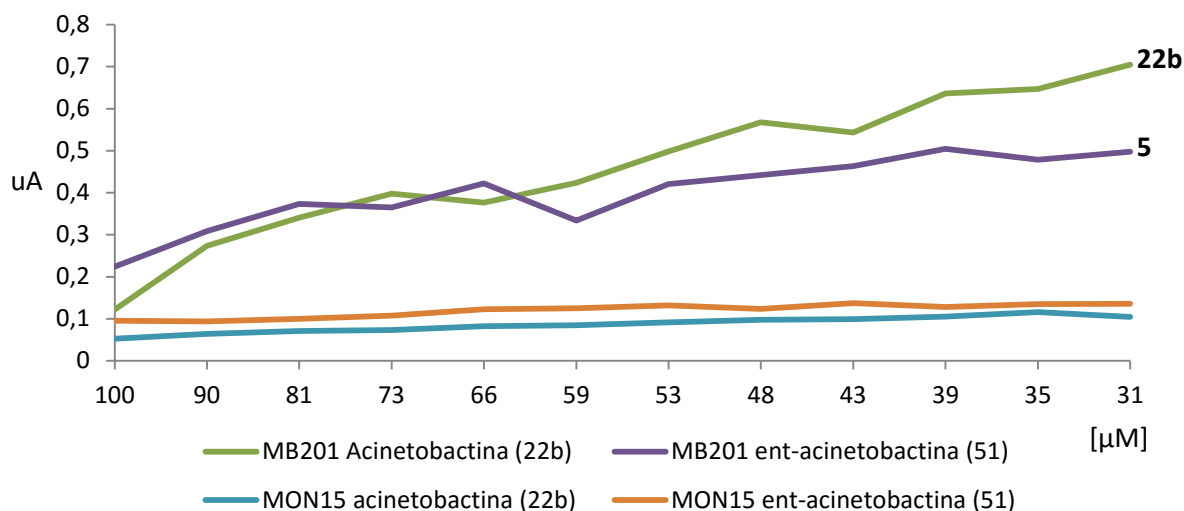


Figura 34. Crecimiento de las cepas MON15 y MB201 tras 20 h de incubación añadiendo 1 μg de acinetobactina (**22b**) y *ent*-acinetobactina (**51**).

Como se puede observar, los dos compuestos inducen el crecimiento del mutante MON15 (cepa que no produce ningún tipo de sideróforo), mientras que ni acinetobactina ni su enantiómero son capaces de restaurar el crecimiento del mutante MB201 (cepa que carece del receptor de acinetobactina FstB). Esto indica que *ent*-acinetobactina (**51**) es reconocido por la proteína receptora de igual forma que el sideróforo natural.

En vista a estos resultados se puede concluir que la estereoquímica de los centros asimétricos C-8 y C-9 de acinetobactina parece no ejercer ninguna influencia en la actividad siderófora ni el reconocimiento molecular (Figura 35).

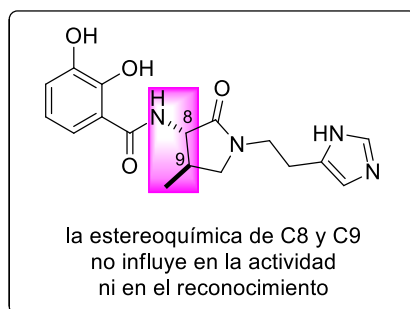


Figura 35. Relaciones estructura-actividad siderófora.

5. CONCLUSIONES

✓ Se sintetizaron cuatro análogos desmetilados de acinetobactina variando los sustituyentes en la posición C-12, con el fin de estudiar la influencia que ejerce en la actividad siderófora la presencia de grupo metilo en el anillo de isoxazolidinona y del anillo de imidazol presentes en este compuesto:

- (4*S*)-*N*-(2-(3-aminopropil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**47**), con un grupo metilamino en la posición C-12.
- (4*S*)-*N*-(2-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**48**), con un anillo de imidazol en la posición C-12.
- (4*S*)-*N*-(2-(2-(1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**49**), con un anillo de triazol en la posición C-12.
- (4*S*)-*N*-(2-(2-(1-(3-aminopropil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**50**), con un anillo de triazol funcionalizado en la posición C-12.

✓ Se sintetizó el enantiómero de acinetobactina, *ent*-acinetobactina (**51**) con configuración absoluta *R* para los centros C-8 y C-9, con el fin de estudiar la influencia que ejerce la configuración de los centros asimétricos en la actividad siderófora.

✓ Se realizó la evaluación de la actividad siderófora de los compuestos sintetizados en la cepa salvaje y en dos mutantes, comparándose con la actividad del sideróforo natural, para lo cual fue necesario re-aislar acinetobactina de las cepas de *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*.

- ✓ Finalmente, de los resultados obtenidos en los bioensayos se dedujo que:
- Frente a la cepa salvaje: todos los compuestos sintetizados (**47-51**) presentan actividad siderófora.
 - Frente a las cepas mutantes se deduce:
 - La presencia del anillo de imidazol o triazol en la posición C-12 en los derivados desmetilados es esencial para que presenten actividad siderófora.
 - La presencia del grupo metilo en la posición C-9 del anillo de oxazolidinona de acinetobactina es esencial para el reconocimiento molecular por la proteína receptora de acinetobactina.
 - La estereoquímica de los centros asimétricos C-8 y C-9 de acinetobactina no influye en el reconocimiento molecular de la misma.

Capítulo III

Síntesis total de prepiscibactina y
aproximación sintética a piscibactina

CAPÍTULO III

SÍNTESIS DE TOTAL DE PREPISCIBACTINA Y APROXIMACIÓN SINTÉTICA A PISCIBACTINA

1. ANTECEDENTES

1.1. Bacteria *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*

Photobacterium damsela subsp. *piscicida* es la bacteria patógena causante de la pasteurelrosis en peces, una enfermedad que ocasiona grandes pérdidas económicas en la industria de la acuicultura marina en todo el mundo.^{11,12,13}

Estudios previos han permitido determinar que el hierro juega un papel relevante en la patogénesis de *P. damsela* subsp. *piscicida*, ya que esta bacteria posee un sistema de abstracción de alta afinidad de hierro que funciona mediante la síntesis de sideróforos y la utilización de proteínas receptoras de membrana.⁸⁶

En trabajos realizados por el grupo de microbiología que coordina el profesor Manuel Lemos de la Universidad de Santiago de Compostela, se ha identificado, clonado y caracterizado un *cluster* de aproximadamente 35 kb, que contiene los genes responsables de la síntesis de un sideróforo de tipo fenolato.⁸⁷ Se encontró una gran

⁸⁶ Magariños, S.; Romalde, J. L.; Lemos, M. L. Barja, J. L.; Toranzo, A. E. *Appl. Environ. Microbiol.* **1994**, *60*, 2990-2998.

⁸⁷ Osorio, C. R. ; Ríos, S. J., Lemos, M. L. *Microbiology* **2006**, *152*, 3327-3341.

similitud entre el *cluster* caracterizado y la secuencia de genes que codifica la síntesis de las proteínas implicadas en la producción de yersiniabactina (Figura 36),⁸⁸ sideróforo aislado de especies patógenas de *Yersinia*, tales como *Y. pestis*, causante de la peste negra, o *Y. enterocolitica*, capaz de producir graves infecciones intestinales en seres humanos.⁸⁹

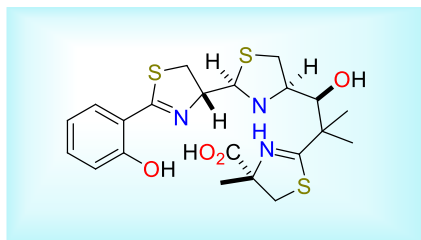


Figura 36. Estructura de yersiniabactina (8).

Este estudio permitió postular que el sideróforo producido por *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* podría estar estructuralmente relacionado con yersiniabactina (8). Esta hipótesis se vio respaldada al observarse que células de esta bacteria pueden usar yersiniabactina para superar condiciones de crecimiento con déficit de hierro.

1.2. Aislamiento y caracterización estructural de piscibactina

En el año 2012 miembros de nuestro grupo de investigación lograron aislar y caracterizar un nuevo sideróforo como complejos de galio(III) y hierro(III) que fue bautizado como piscibactina (Figura 37), a partir de cultivos crecidos con déficit de hierro en un medio CM9 de la bacteria *P. damsela* subsp. *piscicida*.⁹⁰

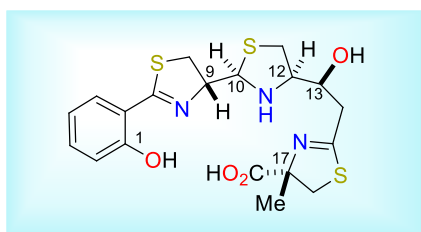


Figura 37. Estructura de piscibactina (79).

El análisis del *cluster* de genes implicados en la biosíntesis de este nuevo sideróforo proporcionó una valiosa información para la caracterización parcial de su estructura que

⁸⁸ Drechsel, H.; Stephan, H.; Lotz, R.; Haag, H.; Zähler, H.; Hantke, K.; Jung, G. *Liebigs Ann.* **1995**, 1727-1733.

⁸⁹ Perry, R. D.; Fetherston, J. D. *Microb. Infect.* **2011**, 13, 808-817.

⁹⁰ Souto, A.; Montaos, M. A.; Rivas, A. J.; Balado, M.; Osorio, C. R.; Rodríguez, J.; Lemos, M. L.; Jiménez, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 5693-5700.

fue resuelta por espectroscopia de RMN, espectrometría de MS y modelización molecular mediante cálculos DFT. Es un sideróforo de tipo fenolato que está formado por un fenol, dos anillos tiazolínicos y otro tiazolidínico. A diferencia de yersiniabactina (**8**), carece de dos grupos metilo en la posición C-14. Este resultado coincide con la información obtenida a partir del *cluster* que indicaba la falta de metiltransferasas, sugiriendo la ausencia de algún grupo metilo presente en **8**. Posee cinco centros quirales con estereoquímica relativa $9R^*$, $10R^*$, $12R^*$, $13S^*$, $17S^*$.

Dado que los sideróforos son esenciales para el crecimiento y la virulencia de los patógenos bacterianos, el conocimiento de la estructura de piscibactina y de su ruta de biosíntesis pueden ser útiles para el desarrollo de nuevos tratamientos contra la pasteurelisis, basados en los mecanismos de captación de hierro por dicho sideróforo.

1.3. Aislamiento y caracterización estructural de prepiscibactina

Durante el aislamiento de piscibactina, se aisló y caracterizó un metabolito más pequeño que fue denominado prepiscibactina (Figura 38).

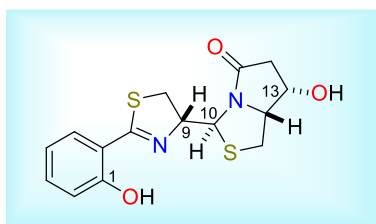


Figura 38. Estructura de prepiscibactina (**80**).

A partir de la ruta biosintética propuesta para piscibactina, se postuló que prepiscibactina puede ser un posible intermediario en su biosíntesis. La estereoquímica relativa de esta molécula que incorpora en su estructura un grupo fenol, un anillo de tiazolina y otro de tiazolidina fusionado con una γ -lactama, fue propuesta mediante la combinación de correlaciones NOE y estudios DFT como $9R^*$, $10S^*$, $12R^*$, $13S^*$.

Consideramos que la síntesis de prepiscibactina sería muy útil en la aclaración de la ruta biosintética de piscibactina y por lo tanto para el desarrollo de nuevos antibacterianos diseñados racionalmente contra la pasteurelisis.

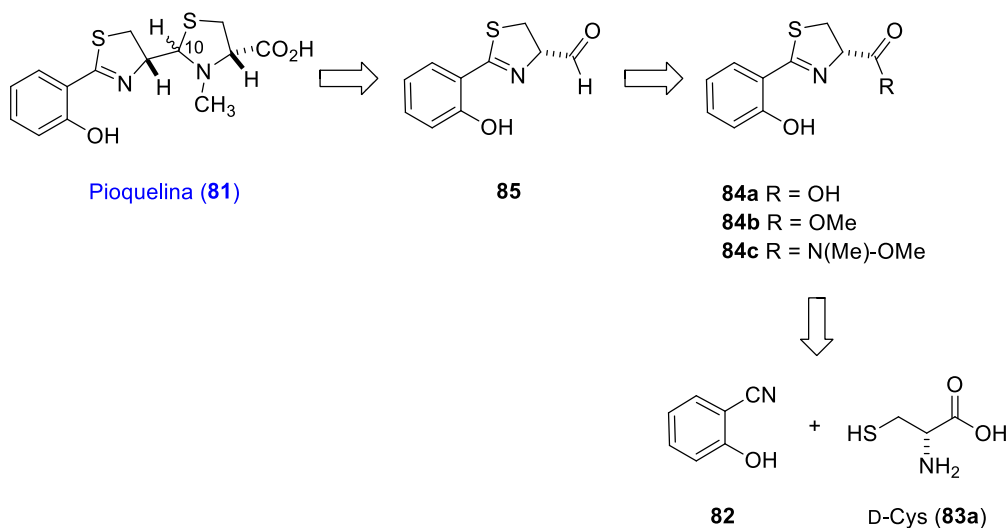
1.4. Sideróforos estructuralmente similares: síntesis de pioquelina y yersiniabactina

Las estructuras de piscibactina y prepiscibactina, además de ser muy parecidas a la de yersiniabactina (**8**), presentan una gran similitud con la del sideróforo pioquelina (**81**),

por lo que los trabajos previos sobre la síntesis de ambos fueron de gran utilidad en la planificación de nuestra estrategia sintética.

Pioquelina (**81**) es un sideróforo del tipo fenolato —estructuralmente es una hidroxifeniltiazoliniltiazolidina— aislado por primera vez en 1978 de *Pseudomonas aeruginosa* como una mezcla de dos diastereoisómeros que resultan de la epimerización del C-10. Su estructura fue elucidada tres años más tarde por Cox y col.⁹¹

Diversos grupos de investigación han llevado a cabo la síntesis tanto de pioquelina como de diversos análogos.⁹² La primera síntesis fue publicada a finales de la década de los 80 por Ankenbauer y col.,⁹³ y está basada en la condensación de *N*-metil-L-cisteína con el aldehído **85**, preparado a su vez tras la condensación de 2-hidroxibenzonitrilo (**82**) con la D-cisteína (**83a**), para formar el ácido carboxílico **84a** (Esquema 34).



Esquema 34. Análisis retrosintético de pioquelina (**81**).

La primera síntesis de la tiazolina **84a** fue descrita por Mathur y col.⁹⁴ condensando **82** y **83a** en medio básico (piperidina a pH 9). Estas condiciones fueron usadas años más tarde por Rinehart y col.,⁹⁵ demostrando que debido al pH altamente básico, la tiazolina epimerizaba.

⁹¹ Cox, C. D.; Rinehart, K. L.; Moore, M. L.; Cook, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1981**, *78*, 4256–4260.

⁹² (a) Zamri, A.; Abdallah, M. A. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 249-256. (b) Zamri, A.; Schalk, I. J.; Pattus, F.; Abdallah, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1147-1150. (c) Mislin, G. L.; Burger, A.; Abdallah, M. A. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 12139-12145. (d) Rivault, F.; Schons, V.; Liébert, C.; Burger, A.; Sakr, E.; Abdallah, M. A.; Schalk, I. J.; Mislin, G. L. A. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2247-2254. (e) Noël, S.; Guillon, L.; Schalk, I. J.; Mislin, G. L. A. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 844–847.

⁹³ Ankenbauer, R. G.; Toyokuni, T.; Staley, A. L.; Rinehart, K. L. *J. Bacteriol.* **1988**, *170*, 5344-5351.

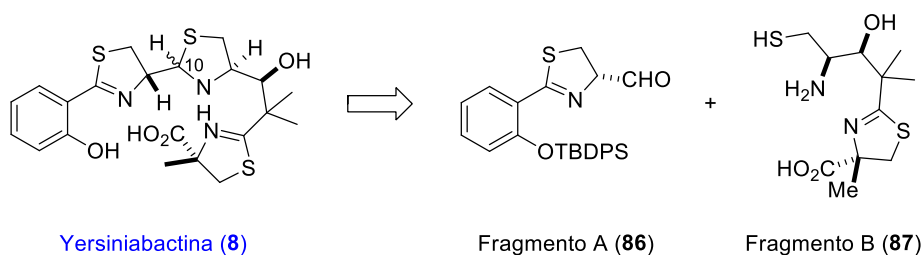
⁹⁴ Mathur, K. B.; Iyer, R. N.; Dhar, M. L. *J. Sci. Ind. Res.* **1962**, 34-37.

⁹⁵ Rinehart, K. L.; Staley, A. L.; Wilson, S. R.; Ankenbauer, R. G.; Cox, C. D. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2786-2791.

El aldehído **85** es un intermedio clave en la síntesis de pioquelina (**81**) y existen varios precedentes bibliográficos para su obtención a partir del ácido **84a**, del éster **84b** o de la amida de Weinreb **84c**. La reducción directa del grupo ácido de la tiazolina **84a** con alquilboranos conlleva a su obtención con rendimientos muy bajos.⁹⁶ La reducción del éster metílico **84b** con hidruro de di-*iso*-butilaluminio además de bajo rendimiento, se produce en parte la sobre-reducción al correspondiente alcohol.⁹⁵

El mejor método es el publicado en 1983 por Fehrentz y Castro⁹⁷ para la preparación de aldehídos derivados de aminoácidos protegidos y que consiste en la reducción de *N,N*-metoximetilamidas (amidas de Weinreb) usando exceso de hidruro de litio y aluminio a 0 °C. Estas amidas, desarrolladas en el año 1981 por Weinreb y Nahm, son usadas con frecuencia en química orgánica sintética como un método fiable para la preparación de aldehídos y cetonas, siendo una aplicación muy extendida su uso en síntesis de productos naturales.⁹⁸

Por otro lado, el sideróforo yersiniabactina (**8**) fue inicialmente aislado como mezcla de dos diastereoisómeros, epímeros en su posición C-10, siendo su estructura determinada en 1995 usando diversos métodos espectroscópicos, incluyendo experimentos de RMN en 2D tanto del ligando libre como de su complejo con galio.⁸⁸ Su configuración absoluta fue determinada mediante la síntesis llevada a cabo en el año 2001 por Ino y Murabayashi en la que el producto fue construido a partir de los fragmentos A (**86**) y B (**87**) que se muestran en el Esquema 35.⁹⁹



Esquema 35. Análisis retrosintético de yersiniabactina (**8**).

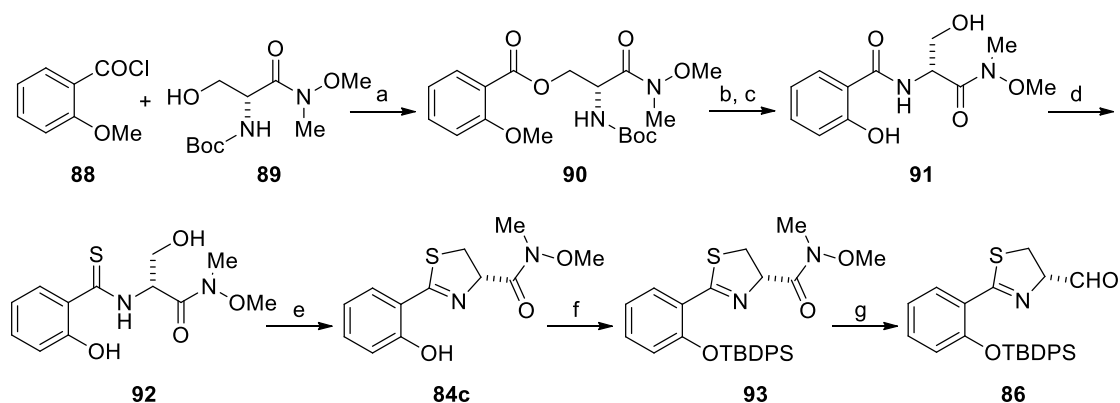
Como se puede observar en el Esquema 36, aunque el fragmento A (**86**) es común a la parte izquierda de pioquelina, los autores llevaron a cabo su síntesis de manera diferente.

⁹⁶ Brown, C. B.; Heim, P.; Yoon, N. M. *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 2942-2950.

⁹⁷ Fehrentz, J. A.; Castro, B. *Synthesis* **1983**, 676-678.

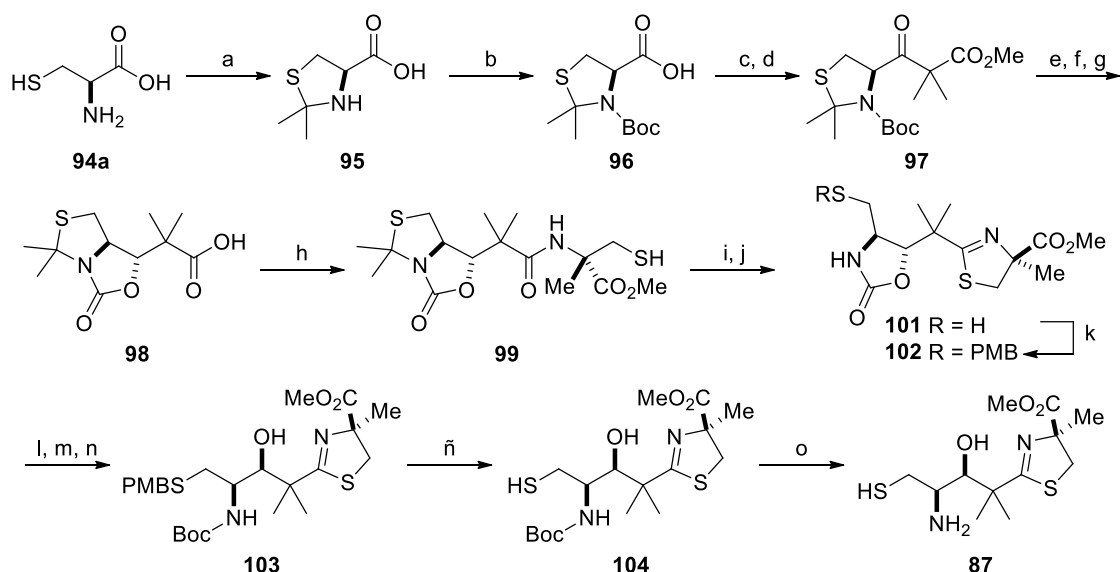
⁹⁸ Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 39, 3815-3818.

⁹⁹ Ino, A.; Murabayashi, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 1897-1902.



Esquema 36. *Reactivos y condiciones:* (a) Et₃N, DMAP, THF (100%); (b) 1. TFA/CH₂Cl₂ (1:5); 2. NaHCO₃ac. (cuantitativo); (c) BCl₃, CH₂Cl₂ (81%); (d) 1. Reactivo de Burgess, THF; 2. H₂S, Et₃N, MeOH (85% para los dos pasos); (e) Reactivo de Burgess, THF (70%); (f) TDDPSCI, Imid., DMF (84%); (g) LiAlH₄, THF (100%).

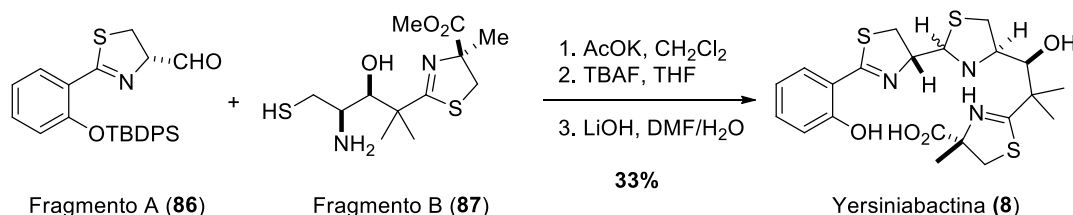
Para la síntesis del fragmento B (**87**) los autores utilizaron el intermedio común **103**, preparado a partir de L-cisteína (**94a**) en la síntesis de otro producto natural de estructura química muy similar a yersiniabactina, micacocidina, un antimicoplásmico aislado de *Pseudomonas* sp. No. 57-250 (Esquema 37).¹⁰⁰



Esquema 37. *Reactivos y condiciones:* (a) 2,2-dimetoxipropano, acetona (88%); (b) Boc₂O, Py (65%); (c) (Imid.)₂CO, THF, 0 °C; (d) Me₂CHCO₂Me, LDA, Et₂O/THF, -78 °C (72% para los 2 pasos); (e) NaBH₄, EtOH (62%); (f) NaH, THF; (g) NaOH, MeOH/H₂O (74% para los 2 pasos); (h) 1. (Imid.)₂CO, THF; 2. 2-Me-D-Cys-OMe·HCl (**100b**·HCl), DMF (71% para los 2 pasos); (i) TFA/tolueno, 120 °C; (j) TMSCHN₂, CH₂Cl₂/MeOH (77% para los 2 pasos); (k) PMBCl, K₂CO₃, DMF (87%); (l) (Boc)₂O, DMAP, CH₂Cl₂; (m) CsCO₃, MeOH; (n) CH₂N₂, Et₂O/MeOH, 0 °C (58% para los 3 pasos); (ñ) 1. Npys-Cl, CH₂Cl₂; 2. ⁿBu₃P, acetona/H₂O (73% para los 2 pasos); (o) TFA/CH₂Cl₂ (1:5) (cuantitativo).

¹⁰⁰ (a) Ino, A.; Hasegawa, Y.; Murabayashi, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3509-3512. (b) Ino, A.; Murabayashi, A. *Tetrahedron* **1999**, 55, 10271-10282. (c) Ino, A.; Hasegawa, Y.; Murabayashi, A. *Tetrahedron* **1999**, 55, 10283-10294.

La condensación final de los dos fragmentos, seguida de la eliminación del grupo protector de silicio e hidrólisis del éster, permitió a los autores la obtención del sideróforo yersiniabactina (Esquema 38).



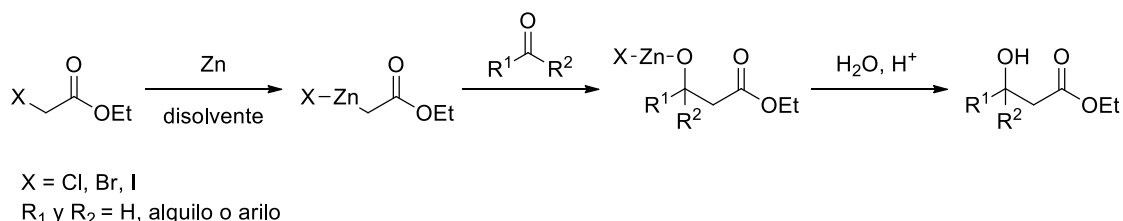
Esquema 38. Condensación de los fragmentos A y B para la obtención de yersiniabactina.

1.5. Antecedentes de las estrategias sintéticas utilizadas para la preparación de prepiscibactina y piscibactina

1.5.1. Introducción estereocontrolada del hidroxilo secundario en la posición 13: aplicación de la reacción de Reformatsky

En nuestro esquema retrosintético inicial se propone que el hidroxilo secundario, de configuración S, presente en la posición C-13 de piscibactina y prepiscibactina, puede ser generado de una forma estereoselectiva usando una reacción de Reformatsky en presencia de Sml_2 .

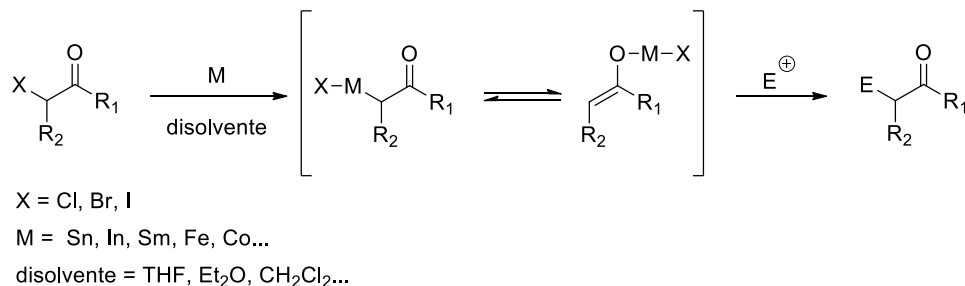
La clásica reacción de Reformatsky, que data de 1887, consiste en la formación de β -hidroxialcanoatos a partir de α -haloacetatos de etilo cuando reaccionan con aldehídos o cetonas en presencia de cinc. La reacción comienza con la inserción de Zn en el enlace carbono—halógeno para formar un enolato, y normalmente ocurre en un medio heterogéneo (Esquema 39).



Esquema 39. Reacción de Reformatsky clásica.

Aunque esta reacción se conoce desde hace más de 125 años, últimamente su alcance se ha extendido más allá de aldehídos y cetonas como electrófilos, siendo aplicada tanto a alquil 2-haloalcanoatos como a haloalcanoatos más alejados (3-, 4-, 5- o más). Además, se han encontrado varios metales y catalizadores que intervienen de forma parecida al cinc, por lo que aparte de éste, se pueden emplear otros metales en estados de oxidación bajo, como por ejemplo samario, titanio, cobalto, cromo o indio.

Estos hechos han hecho necesario una definición más amplia para la reacción de Reformatsky que ahora se refiere a aquellas resultantes de la inserción de metales a enlaces carbono—halógeno activados por grupos carbonilo, derivados o similares en posiciones vecinales o vinílicas con casi todo tipo de electrófilos (Esquema 40).¹⁰¹



Esquema 40. Reacción de Reformatsky.

Por todo ello, este tipo de reacciones se está convirtiendo en una herramienta muy valiosa para la formación de enlaces carbono—carbono, siendo muy utilizada en la síntesis orgánica moderna por su amplia aplicabilidad y su gran versatilidad en sus versiones tanto inter como intramolecular.

Una de sus grandes ventajas es que el enolato se forma bajo condiciones neutras, en contraste con las reacciones aldólicas en las que, por lo general, se necesita un medio básico o ácido para generar el enolato o activar el electrófilo, respectivamente.¹⁰² Sin embargo, las limitaciones más importantes de las reacciones de Reformatsky son sus bajos rendimientos y estereoselectividades. En los últimos años se han llevado a cabo trabajos para conseguir mejorar la diastereoselectividad de esta reacción usando varios tipos de auxiliares quirales.

Por otra parte, los auxiliares quirales basados en heterociclos del tipo oxazolidinona representan una de las herramientas de inducción quiral más poderosas disponibles para los químicos orgánicos.¹⁰³ Las *N*-aciloxazolidinonas derivadas de las oxazolidinonas de Evans, han resultado ser intermediarios sintéticos adecuados para obtener compuestos naturales enantioméricamente puros. Las reacciones de sus enolatos con una gran variedad de electrófilos: alquilación,¹⁰⁴ acilación,¹⁰⁵ bromación,¹⁰⁶

¹⁰¹ Ocampo, R.; Dolbier, W. R. *Tetrahedron* **2004**, 60, 9325-9374.

¹⁰² Choppin, S.; Ferreiro-Medeiros, L.; Barbarotto, M.; Colobert, F. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 937-949.

¹⁰³ Arya, P.; Qin, H. *Tetrahedron* **2000**, 56, 917-947.

¹⁰⁴ Evans, D. A.; Ennis, M. D.; Mathre, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1737-1739.

¹⁰⁵ Evans, D. A.; Ennis, M. D.; Le, T.; Mande, N.; Mandel, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 1154-1157.

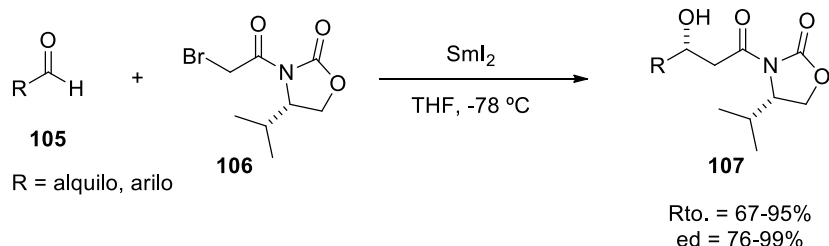
¹⁰⁶ Evans, D. A.; Ellman, J.A.; Dorow, R. L. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 1123-1126.

aminación,¹⁰⁷ hidroxilación,¹⁰⁸ y la más importante, condensación aldólica,¹⁰⁹ se desarrollan con altas diastereoselectividades.

El empleo de estos auxiliares quirales está permitiendo conseguir reacciones de Reformatsky enantio y diastereoselectivas entre aldehídos o cetonas con diferentes electrófilos catalizadas por distintos metales.¹¹⁰ En particular, la reacción asimétrica de Reformatsky en presencia de yoduro de samario resulta de gran utilidad.

○ Reacción de Reformatsky en presencia de SmI₂

El SmI₂ es conocido por ser un reactivo altamente versátil en síntesis orgánica,¹¹¹ y su aplicación en una reacción de Reformatsky asimétrica fue llevada a cabo por primera vez en el año 1991 por Thorel y col., donde la ciclación de varios β- y γ-haloacetoxialdehídos y cetonas condujeron a las correspondientes hidroxilactonas.¹¹² Nueve años más tarde, Fukuzawa y col. desarrollaron su versión intermolecular para la preparación de diferentes β-hidroxicarboximidinas **107** a partir de los aldehídos **105** y la α-bromoacetil-2-oxazolidinona **106** (Esquema 41).¹¹³ Los valores de los excesos diastereoméricos conseguidos en esta reacción fueron mayores que con la clásica reacción aldólica promovida por enolatos de boro.



Esquema 41. Reacción de Reformatsky de α-bromoacetil-2-oxazolidinona (**106**) con aldehídos.

Dependiendo del grupo funcional situado en la posición α al carbonilo o carboxilo del producto de partida, se pueden plantear dos mecanismos distintos para la formación del intermedio enolato de Sm(III) (Esquema 42).¹¹⁴ Si el compuesto **108** posee un grupo

¹⁰⁷ Evans, D. A.; Britton, T. C.; Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6395-6397.

¹⁰⁸ Evans, D. A.; Morrissey, M. M.; Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4346.

¹⁰⁹ (a) Evans, D. A.; Bartli, J.; Shih, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127-2127. (b) Evans, D. A.; Sjorgen, E. B.; Weber, A. E.; Conn, R. E. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 39-42.

¹¹⁰ (a) Cozzi, P. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2568-2571. (b) Cozzi, P. G.; Mignogna, A.; Zoli, L. *Pure Appl. Chem.* **2008**, *80*, 891-901. (c) Fernández-Ibáñez, M. A.; Maciá, B.; Alonso, D. A.; Pastor, I. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 7028-7034.

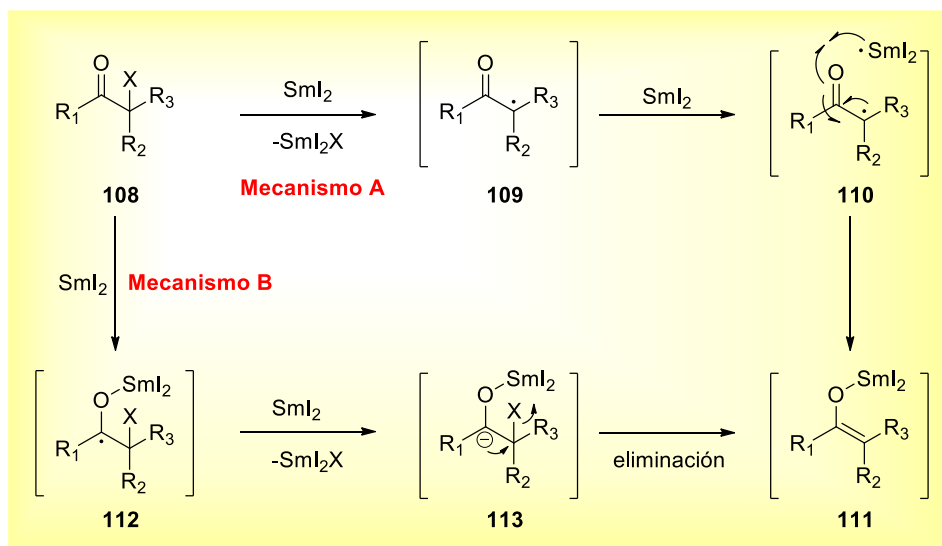
¹¹¹ (a) Gopalaiah, K.; Kagan, H. B. *New J. Chem.* **2008**, *32*, 607-637. (b) Nicolaou, K. C.; Ellery, S. P.; Chen, J. S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7140-7165. (c) Szostak, M.; Fazakerley, N. J.; Parmar, D.; Procter, D. J. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 5959-6039.

¹¹² Molander, G. A.; Etter, J. B.; Harring, L. S.; Thorel, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8036-8045.

¹¹³ Fukuzawa, S.; Matsuzawa, H.; Yoshimitsu, S. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1702-1706.

¹¹⁴ Molander, G. A.; Hahn, G. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1135-1138.

susceptible a una ruptura reductora, como un haluro o una sulfona, el yoduro de samario puede inducir una reducción radicalaria y formar el radical estabilizado **109** (mecanismo A). Una reducción posterior de **109** proporciona el enolato **111**, que contiene un enlace oxígeno—samario. Alternativamente, si el grupo vecinal no es lábil a la reducción, la reacción irá a través de la formación inicial del radical cetilo **112** (mecanismo B), que después de una segunda reducción, formará el carbanión **113**. Finalmente, la eliminación espontánea del grupo vecinal generará el enolato **111**.



Esquema 42. Mecanismos posibles para la formación del enolato de samario.

A pesar de que este proceso proporciona un enfoque alternativo a las reacciones aldólicas asimétricas, en la bibliografía se han descrito tan sólo unos pocos ejemplos de esta reacción.¹¹⁵ Cabe destacar entre estos trabajos, los llevados a cabo de forma independiente por Mukaiyama y col.¹¹⁶ y Arseniyadis y col.,¹¹⁷ en los que realizan una reacción de Reformatsky intramolecular usando SmI_2 durante la síntesis total del taxol.

Uno de los pocos ejemplos de reacciones Reformatsky diastereoselectivas sin el “efecto de la doble inducción” de los sustituyentes situados en α ,¹¹⁸ aparece en el trabajo de Burke y col., en el que los autores emplearon esta reacción para la síntesis de

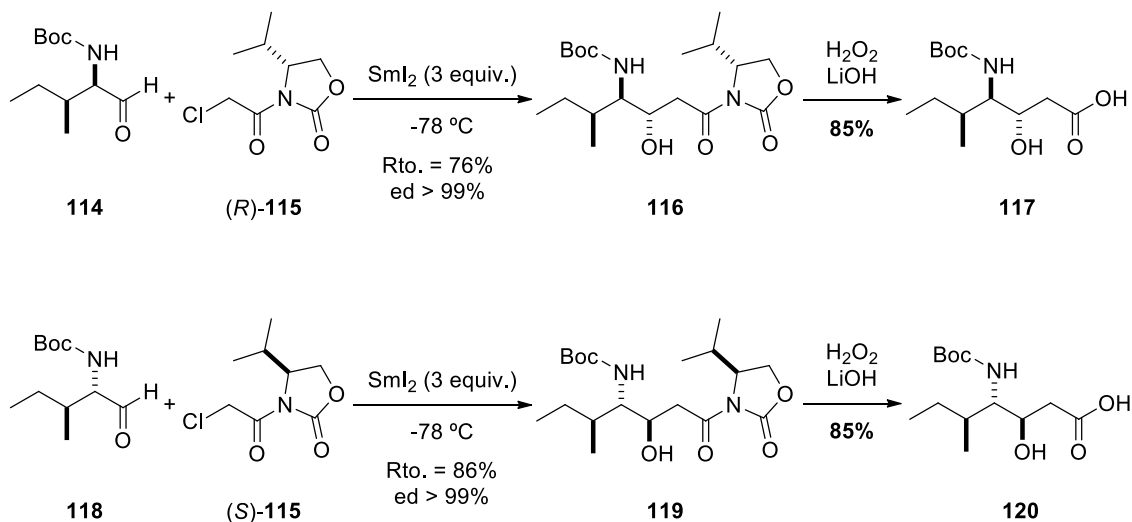
¹¹⁵ (a) Orsini, F.; Sello, G.; Manzo, A. M.; Lucci, E. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 1913-1918. (b) Nagamitsu, T.; Takano, D.; Marumoto, K.; Fukuda, T.; Furuya, K.; Otoguro, K.; Takeda, K.; Kuwajima, I.; Harigaya, Y.; Omura, S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2744-2756. (c) Kanada, R. M.; Itoh, D.; Nagai, M.; Nijijima, J.; Asai, N.; Mizui, Y.; Abe, S.; Kotake, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4350-4355. (d) John, J. P.; Jost, J.; Novikov, A. V. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6083-6091. (f) Mineno, M.; Sawai, Y.; Kanno, K.; Sawada, N.; Mizufune, H. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5843-5850. (g) Sengupta, S.; Sim, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 5063-5070.

¹¹⁶ Mukaiyama, T.; Shiina, I.; Iwadare, H.; Saitoh, M.; Nishimura, T.; Ohkawa, N.; Sakoh, H.; Nishimura, K.; Tani, Y.; Hasegawa, M.; Yamada, K.; Saitoh, K. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 121-161.

¹¹⁷ Hamon, S.; Birlirakis, N.; Toupet, L.; Arseniyadis, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 4082-4092.

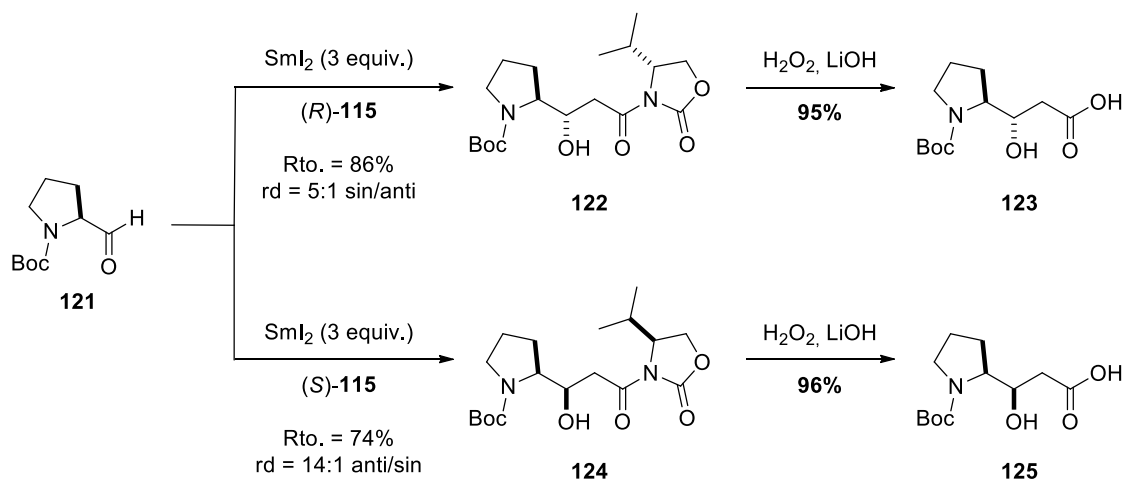
¹¹⁸ Kolodiazny, O. I. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5953-6018.

β -hidroxi- γ -aminoácidos a partir de α -cloroacetiloxazolidinonas y aminoaldehídos usando SmI_2 .¹¹⁹ En este trabajo quedó demostrado que la diastereoselectividad de esta reacción depende de la configuración absoluta del auxiliar de Evans empleado, obteniéndose los productos *sin* o *anti* selectivamente. Como se muestra en el Esquema 43, los compuestos *N*-Boc-isostatina (**117**) y *N*-Boc-dolaisoleucina (**120**) fueron obtenidos con diastereoselectividades muy elevadas y en muy buenos rendimientos.



Esquema 43. Síntesis estereoselectiva de los (*R*)- y (*S*)- β -hidroxi- γ -aminoácidos **117** y **120**.

Sin embargo, como se observa en el Esquema 44, en este trabajo las adiciones de (*R*)- y (*S*)-**115** al *N*-Boc-(*S*)-prolinal (**121**) dieron diastereoselectividades que van de moderadas (rd 14:1 para la configuración relativa *anti*, **124**) a bajas (rd 5:1 para la configuración relativa *sin*, **122**).



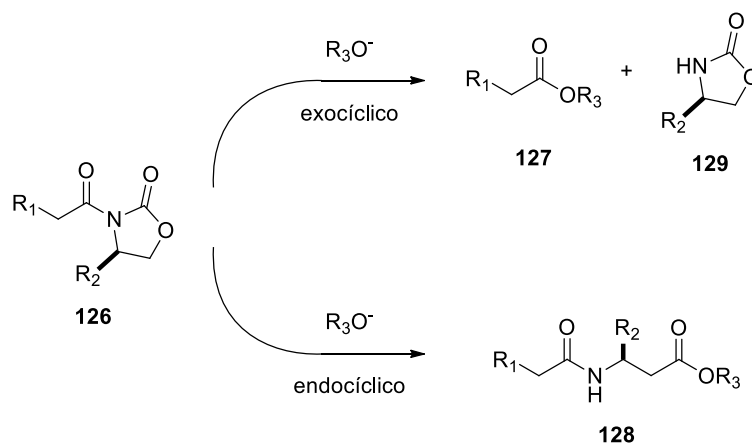
Esquema 44. Síntesis estereoselectiva de los (*R*)- y (*S*)- β -hidroxi- γ -aminoácidos a partir del *N*-Boc-prolinal (**121**).

¹¹⁹ Nelson, C. G.; Burke, T. R. J. *Org. Chem.* **2012**, 77, 733-738.

La validación de esta metodología para la construcción de derivados de β -hidroxi- γ -aminoácidos requiere más ejemplos para cubrir una gama de diferentes sustratos. Además, a día de hoy no se han descrito ejemplos que impliquen el uso de otros heterociclos, por ejemplo, tiazolidinas, en los que la presencia de un átomo de azufre adicional podría afectar el resultado de la reacción.

○ Eliminación del auxiliar quiral

Uno de los pasos clave para la utilización de las oxazolidinonas de Evans en la síntesis asimétrica es la eliminación del auxiliar quiral de manera quimioselectiva y sin racemización de los centros estereogénicos presentes en el sistema. Ésta se lleva a cabo generalmente mediante un ataque nucleófilo, pero si existen dos centros en la molécula susceptibles de este ataque, se pueden originar dos posibles productos (Esquema 45). El ataque exocíclico o endocíclico de la *N*-aciloxazolidinona **126** está sujeto a factores estéricos y electrónicos.¹²⁰ En ausencia de impedimentos estéricos, los factores electrónicos dirigen la hidrólisis (o la transesterificación, dependiendo de que el nucleófilo sea HO^- ó RO^-) y se produce el ataque exocíclico proporcionando el producto deseado, el nuevo derivado carboxílico **127**, recuperándose el auxiliar quiral **129**. Sin embargo, cuando hay grupos voluminosos en el entorno de R_1 , los factores estéricos aumentan las probabilidades del ataque nucleófilo endocíclico, produciéndose **128**.



Esquema 45. Posibles procesos en el ataque nucleófilo a la aciloxazolidinona **126**.

Se han descrito diferentes métodos para lograr la eliminación sin racemización del auxiliar quiral: transesterificación con LiOBn ,¹⁰⁴ transaminación con $\text{Me}_2\text{AlN}(\text{OR})\text{R}$,¹⁰⁵ o hidrólisis con LiOH ,¹⁰⁶ pero todos presentan problemas de quimioselectividad dependiendo de la voluminosidad del grupo R_1 (Esquema 45). El hidroperóxido de litio, sin embargo, presenta una extraordinaria insensibilidad a factores estéricos, ofreciendo

¹²⁰ Evans, D. A.; Britton, T.; Ellman, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6141-6144.

una gran quimioselectividad y convirtiéndose en el reactivo más utilizado para esta transformación.¹⁰⁶

1.5.2. Obtención de tiazolinas y tiazolidinas

Tanto piscibactina como prepiscibactina, contienen anillos de tiazolina y tiazolidina en su estructura. Éstos son importantes heterociclos que contienen átomos de nitrógeno y azufre formando un anillo de cinco miembros, siendo las tiazolidinas los análogos saturados de las tiazolinas (Figura 39).

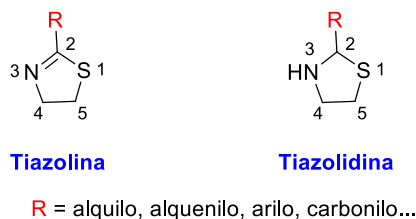


Figura 39. Estructura general y numeración de los heterociclos tiazolina y tiazolidina.

En los últimos 20 años, estos compuestos han llamado mucho la atención de los químicos sintéticos y farmacéuticos debido a su presencia en muchos productos naturales que presentan una gran variedad de actividades biológicas y farmacológicas: antimicrobiana, antiviral, sedante, antidepresiva, anticancerosa o antiinflamatoria.¹²¹ Cada vez son más los productos naturales descubiertos que contienen estos anillos, lo que hace que tengan un gran potencial en el campo de desarrollo de fármacos.

Algunos productos naturales que contienen anillos tiazolínicos son la curacina A (**130**),¹²² un agente que inhibe la mitosis celular; el largazol (**131**),¹²³ un potente inhibidor de histona desacetilasas (HDACs); el mirabazol B (**132**),¹²⁴ que presenta actividad citotóxica o la bacitracina A (**133**),¹²⁵ un antibiótico usado en ungüentos de uso tópico y en alimentos de animales (Figura 40).

¹²¹ (a) Carmeli, S.; Moore, R. E.; Patterson, G. M. L.; Corbett, T. H.; Valeriote, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8195-8197. (b) Kolter, R.; Moreno, F. *Annu. Rev. Microbiol.* **1992**, *46*, 141-163. (c) White, J. D.; Kim, T. S.; Nambu, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5612-5613. (d) Lewis, J. R. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 57-84. (e) Zarantonello, P.; Leslie, C. P.; Ferritto, R.; Kazmierski, W. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 561-565. (f) Choi, H.; Pereira, A. R.; Cao, Z.; Shuman, C. F.; Engene, N.; Byrum, T.; Maitinaho, T.; Murray, T. F.; Mangoni, A.; Gerwick, W. H. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 1411-1421.

¹²² (a) Gerwick, W. H.; Proteau, P. J.; Nagle, D. G.; Hamel, E.; Blokin, A.; Slate, D. L. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1243-1245. (b) Lai, J. Y.; Yu, J.; Mekonnen, B.; Falck, J. R. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7167-7170. (c) White, J. D.; Kim, T. S.; Nambu, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 103-111.

¹²³ (a) Taori, K.; Paul, V. J.; Luesch, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806-1807. (b) Hong, J.; Luesch, H. *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 449-456.

¹²⁴ Carmeli, S.; Moore, R. E.; Patterson, G. M. L. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2593-2596.

¹²⁵ Lee, J.; Griffin, J. H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3983-3986.

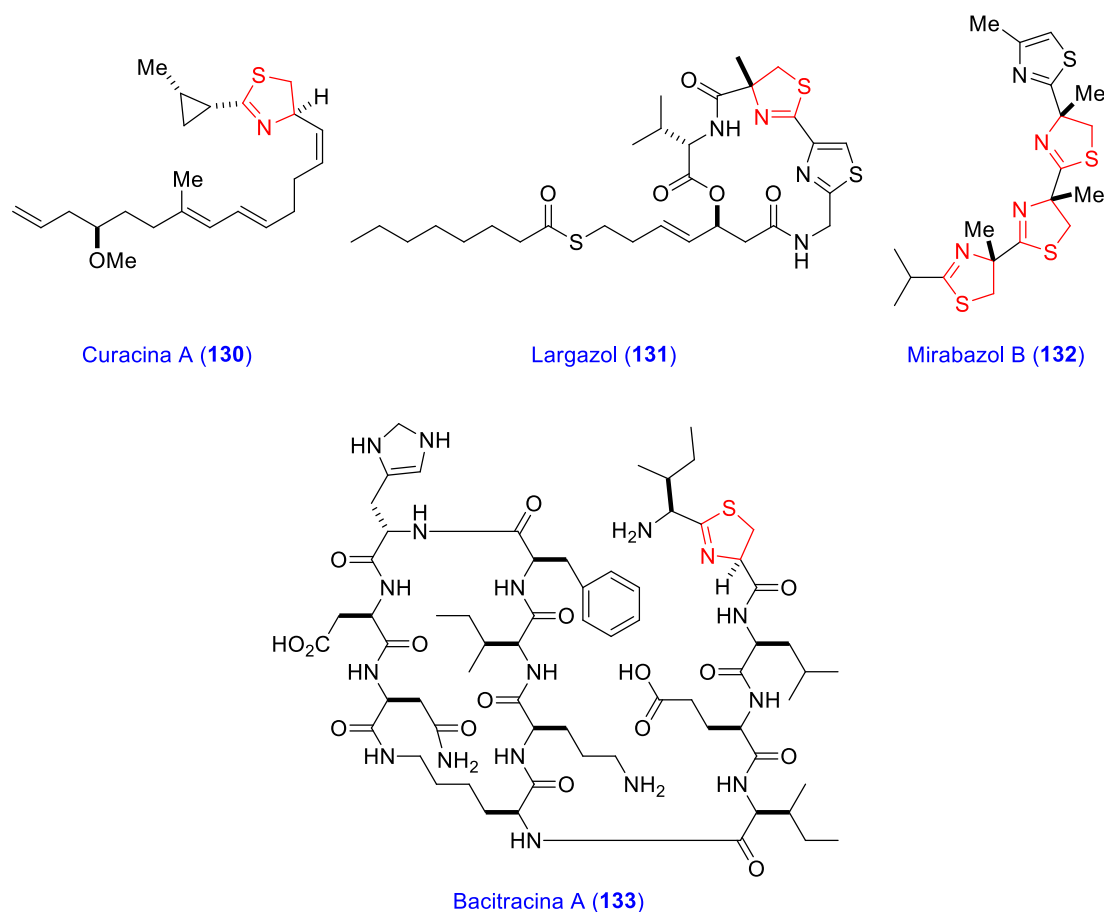


Figura 40. Ejemplos de productos naturales que contienen tiazolinas.

Las tiazolinas también se encuentran en aromas, condimentos y moléculas luminiscentes como la luciferina (**134**), responsable de la característica luz amarilla que emiten las luciérnagas (Figura 41).

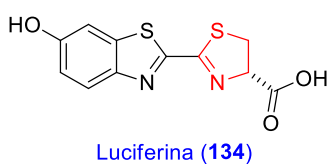


Figura 41.

Además, estos compuestos son muy útiles en química orgánica sintética, ya que por ejemplo, las tiazolinas y sus sales de tiazolidinio se utilizan como ligandos quirales en catálisis asimétrica¹²⁶ y en el desarrollo de líquidos iónicos quirales.¹²⁷ Debido a su

¹²⁶ (a) Abrunhosa, I.; Gulea, M.; Levillain J.; Masson, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 2851-2859. (b) Molina, P.; Tárraga, A.; Curiel, D.; Bautista, D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 1621-1628. (c) Du, D. M.; Fu, B.; Xia, Q. *Synthesis* **2004**, 221-226. (d) Betz, A.; Yu, L.; Reiher, M.; Gaumont, A. C.; Jaffrès, P. A.; Gulea, M. *J. Organomet. Chem.* **2008**, 693, 2499-2508.

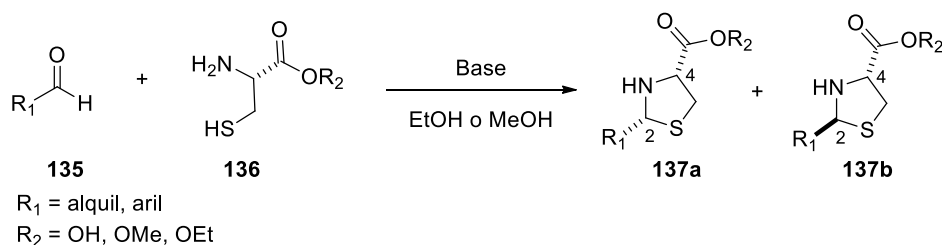
¹²⁷ Brégeon, D.; Levillain, J.; Guillen, F.; Plaquevent, J. C.; Gaumont, A. C. *Amino Acids* **2008**, 35, 175-184.

importancia en numerosos campos de la investigación, se han desarrollado diversos métodos para la construcción de anillos de tiazolidina y tiazolina.¹²⁸

A) Métodos generales de obtención de tiazolidinas

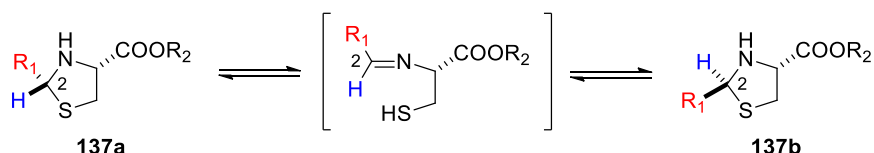
La condensación de β -aminotioles con aldehídos bajo condiciones básicas es el método más habitual para obtener tiazolidinas. La L-cisteína y sus ésteres son aminotioles comercialmente disponibles muy baratos que reaccionan rápidamente con aldehídos para dar los correspondientes ésteres y ácidos (*R*)-tiazolidina-4-carboxílicos.¹²⁹

Desafortunadamente, esta condensación proporciona generalmente las tiazolidinas 2-sustituidas *cis*-(2*R*,4*R*)-**137a** y *trans*-(2*S*,4*R*)-**137b**, como mezcla de diastereoisómeros difícil de separar (Esquema 46).



Esquema 46. Síntesis de tiazolidinas.

La formación de dichos diastereoisómeros se explica debido a que tiene lugar un equilibrio entre **137a** y **137b**, resultante de la epimerización del centro estereogénico de la posición C-2 debido a la apertura y cierre del anillo de tiazolidina (Esquema 47).¹³⁰



Esquema 47. Epimerización de la tiazolina **137** en la posición C-2.

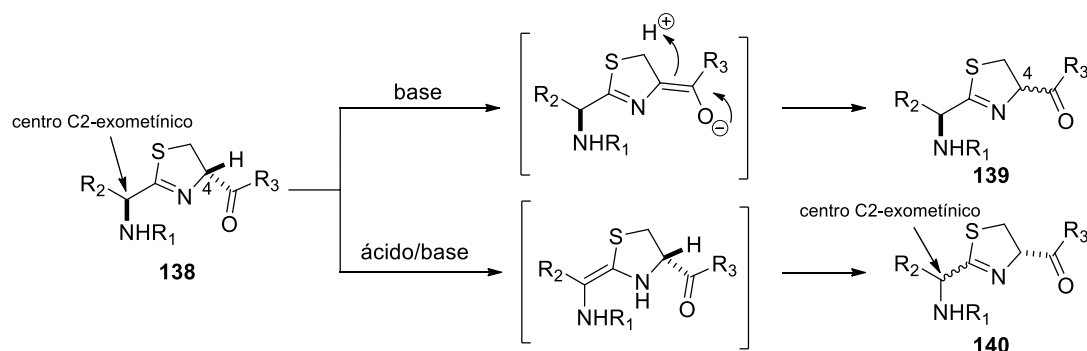
¹²⁸ (a) Gaumont A. C.; Gulea, M.; Levillain, J. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1371-1401. (b) Xu, Z.; Ye, T. (2011). Thiazoline and Thiazole and Their Derivatives. En Majumdar, K.C.; Chattopadhyay, S.K. (editores) *Heterocycles in Natural Product Synthesis* (pp. 459-505). Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. (c) Eftekhari-Sis, B.; Zirak, M.; Akbari, A. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 2958-3043.

¹²⁹ (a) Confolane, P. N.; Pizzalato, G.; Baggiolini, E. J.; Lollar, D.; Uskokovic, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 7020-7026. (b) Roberts, J. C.; Nagasawa, H. T.; Zera, R. T.; Fricke, R. F.; Goon, J. W. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1891-1896. (c) Calmes, M.; Escale, F.; Paolini, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 3691-3697. (d) Marchalín, S.; Cvopová, K.; Kriz, Baran, P.; Oulyadi, H.; Daïch, A. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4227-4237. (e) Calvo, L. A.; González-Ortega, A.; Marcos, R.; Pérez, M.; Sañudo, M. C. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3691-3700.

¹³⁰ (a) Nagasawa, H. T.; Goon, D. J. W.; DeMaster, E. W. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 1274-1279. (b) Schlegel, K.; Taraz, K.; Budzikiewicz, H. *BioMetals* **2004**, *17*, 409-414. (c) Brunner, H.; Becker, R.; Riepl, G. *Organometallics*, **1984**, *3*, 1354-1359.

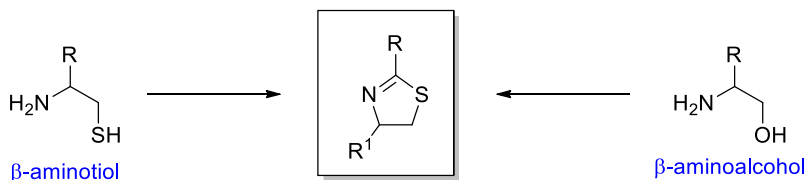
B) Métodos generales de obtención de tiazolinas

A partir de la biosíntesis de tiazolinas se deduce que pueden proceder de dipéptidos que contienen restos de cisteína. Desde un punto de vista sintético, es bien conocido que los centros estereogénicos C-4 y C-2 exometínico de las tiazolinas **138** racemizan fácilmente tanto en condiciones ácidas como básicas (Esquema 48).¹³¹ Por ello, el mayor desafío en la preparación de tiazolinas 2,4-disustituidas es la síntesis estereocontrolada de las mismas.



Esquema 48. Epimerización de los centros estereogénicos de un anillo de tiazolina.

Los derivados tiazolínicos pueden prepararse a partir de β -aminotioles o de β -aminoalcoholes, mediante su condensación con un grupo adecuado (Esquema 49). En el primer caso, el átomo de azufre procede del aminotiol, mientras que con los aminoalcoholes se necesita un paso más para introducir un grupo funcional de azufre antes de la condensación.



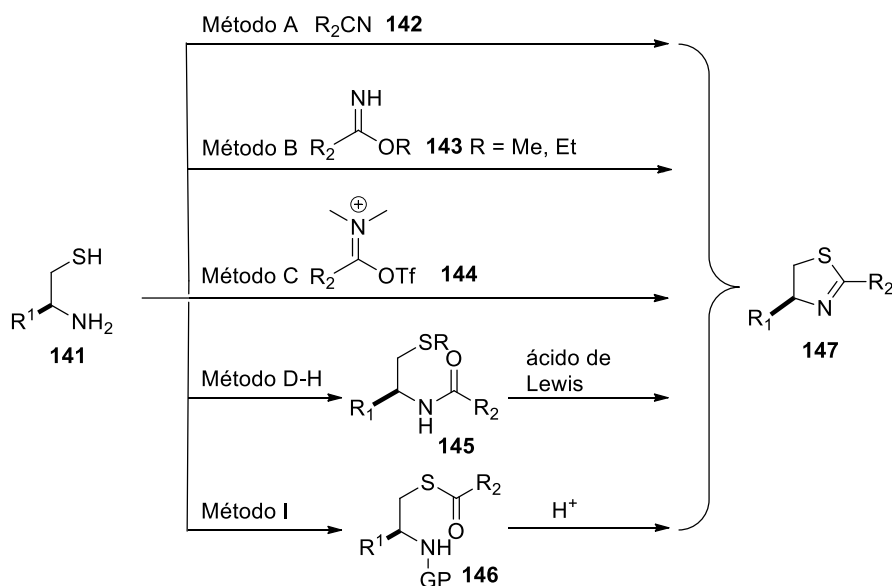
Esquema 49. Preparación general de 2-tiazolinas a partir de β -aminotioles o β -aminoalcoholes.

En este capítulo nos centraremos en los métodos a partir de aminotioles, ya que pretendemos usar cisteína como producto de partida.

I. Síntesis de tiazolinas a partir de β -aminotioles

Los aminotioles vecinales **141** condensan fácilmente con los nitrilos **142**, con los iminoéteres **143** o con los triflatos de imino **144** para dar directamente los derivados tiazolínicos **147** (Esquema 50, Métodos A-C). Por otro lado, tanto las amidas **145** como los tioésteres **146** proporcionan las tiazolinas **147** después de ser sometidas a un proceso de ciclación-deshidratación (Esquema 50, Métodos D-I).

¹³¹ Wipf, P.; Fritch, P. C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 5397-5400.

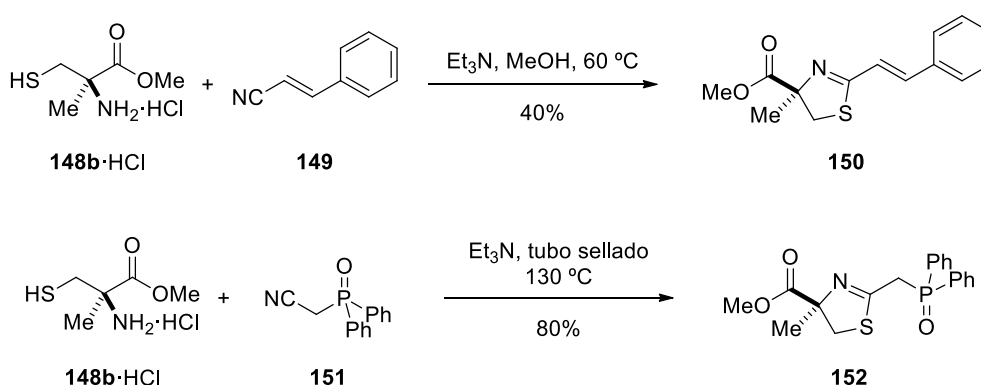


Esquema 50. Preparación de tiazolinas a partir de β -aminotioles.

Método A: Condensación de β -aminotioles con nitrilos

Los nitrilos son reactivos electrófilos por lo que pueden reaccionar con el grupo amino o tiol, implicando un ataque nucleófilo directo al nitrilo, que es convertido previamente en un grupo imino. Esta reacción normalmente se lleva a cabo en metanol o etanol a reflujo, y puede realizarse con o sin base.¹³²

Durante la síntesis total del tiangazol, Ehrler y col. emplearon los nitrilos **149** y **151** para ser condensados con el hidrocloruro del éster metílico de la 2-metil-L-cisteína (**148b**) y obtener las tiazolinas **150** y **152** (Esquema 51).¹³³ Condiciones similares también fueron empleadas por Pattenden y col. en la síntesis total del tiangazol.¹³⁴



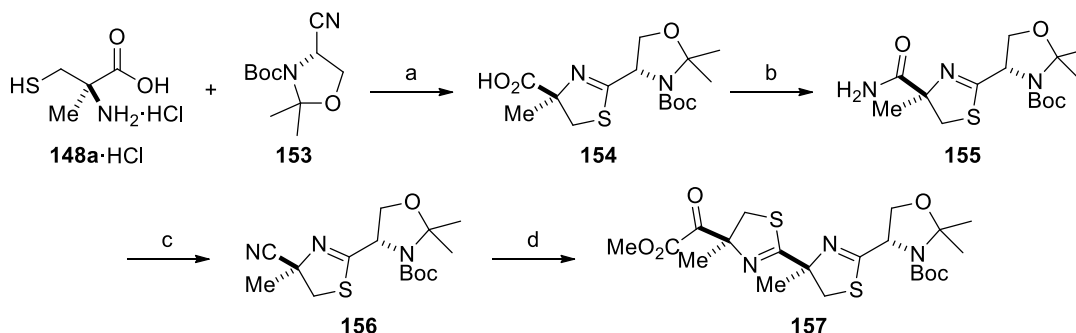
Esquema 51. Condensación del hidrocloruro del éster metílico de la 2-metil-L-cisteína (**148b**-HCl) con nitrilos.

¹³² (a) Kwiatkowski, S.; Crocker, P. J.; Chavan, A. J.; Imai, N.; Haley, B. E.; Watt, D. S.; Ho, R. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 2093-2096. (c) Ramasamy, K. S.; Bandaru, R.; Averett, D. J. *Org. Chem.* **2000**, 65, 5849-5851.

¹³³ Ehrler, J.; Farooq, S. *Synlett* **1994**, 702-704.

¹³⁴ Boyce, R. J.; Mulqueen, G. C.; Pattenden, G. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 5705-5708.

Esta metodología también fue utilizada en el año 2011 por Wang y col. para la síntesis total de la hoiamida C,¹³⁵ logrando sintetizar la bistiazolina **157** a partir del hidrocloreuro de la 2-metil-L-cisteína (**148a**) con un alto rendimiento (Esquema 52).

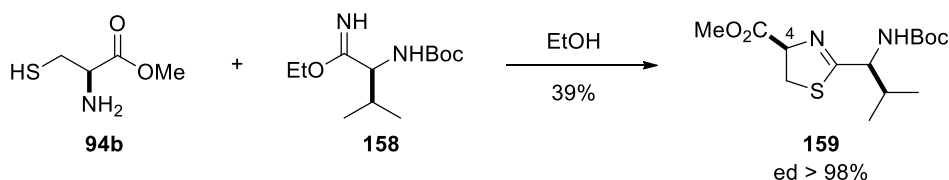


Esquema 52. *Reactivos y condiciones:* (a) Et₃N, EtOH, Δ (88%); (b) ^tBuCOCl, Et₃N; THF/NH₃; (c) TFAA, DIPEA, THF (73% para los dos pasos); (d) 1. **148a**·HCl, Et₃N, EtOH, Δ (91%); 2. CH₂N₂; THF (93%).

Método B: Condensación de β-aminotioles con iminoéteres

Los iminoéteres son más reactivos que los nitrilos para condensarse con β-aminotioles, ya que son más electrófilos. Normalmente se preparan a partir de nitrilos o amidas primarias.

En la síntesis de productos naturales suelen emplearse las amidas primarias ya que se pueden obtener fácilmente a partir de los correspondientes ácidos carboxílicos. En el año 1990 Pattenden y North propusieron la condensación de β-aminotioles con iminoéteres derivados de aminoácidos quirales *N*-protegidos. La tiazolina **159** fue preparada con un rendimiento del 39% al hacer reaccionar el iminoéter derivado de L-valina **158**, con el éster metílico de la L-cisteína (**94b**, Esquema 53).¹³⁶ La racemización del centro quiral del anillo de tiazolina (C-4) se minimizó (ed > 98%) elaborando la reacción tan pronto se consumió el iminoéter.



Esquema 53. Condensación de un β-aminotiol con un iminoéter.

Este método fue aplicado, por ejemplo, en la síntesis total de (-)-dideshidromirabazol A¹³⁷ y bacitracina A (**133**, Figura 40).¹²⁵

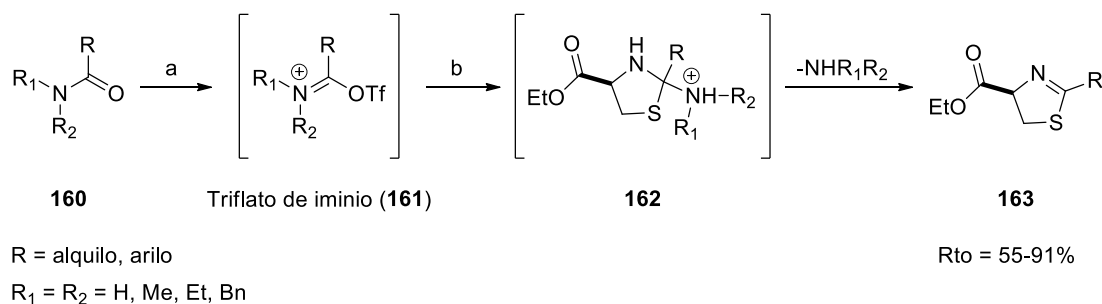
¹³⁵ Wang, L.; Xu, Z.; Ye, T. *J. Org. Lett.* **2011**, *13*, 2506-2509.

¹³⁶ North, M.; Pattenden, G. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 8267-8290.

¹³⁷ Pattenden, G.; Thorn, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1993**, 1629-1636.

Método C: Condensación de β -aminotioles con triflatos de iminio: Método de Charette

Los triflatos de iminio pueden prepararse fácilmente por tratamiento de amidas secundarias o terciarias con anhídrido trifílico en presencia de piridina.¹³⁸ Charette y Chua han descrito una síntesis eficiente de varios 2-alkil y 2-aryl tiazolinas (**163**) a partir del éster etílico de la L-cisteína y amidas secundarias o terciarias (**160**, Esquema 54).¹³⁹

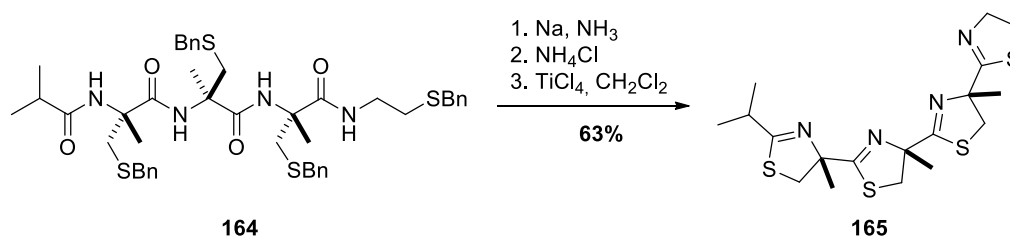


Esquema 54. *Reactivos y condiciones:* (a) Tf₂O, Py, CH₂Cl₂, -50 °C a 0 °C; (b) L-Cys-OEt, -30 °C a 0 °C.

Las condiciones suaves empleadas en este método, son compatibles con la mayoría de los grupos funcionales y permiten la preparación de especies quirales funcionalizadas en altos rendimientos. Por ejemplo, este método ha sido empleado en el año 2003 por Charette y DeRoy en la síntesis total de (+)-cistotiazol A.¹⁴⁰

Método D: Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-protegidas empleando Ti(IV): Método de Heathcock

Durante la síntesis total de (-)-mirabazol C, Heathcock y Walker reportaron un método de obtención de tiazolinas basado en la ciclación/deshidratación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-bencil protegidas en presencia de TiCl₄.¹⁴¹ El tratamiento del tetratiol protegido **164** con TiCl₄ formó cuatro anillos de tiazolina simultáneamente (**165**) en un 63% de rendimiento (Esquema 55).



Esquema 55. Ciclación de la *N*-(2-mercaptoetil)amida **164** activada por Ti(IV).

¹³⁸ Baraznenok, I. L. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3077-3119.

¹³⁹ Charette, A. B.; Chua, P. J. *Org. Chem.* **1998**, *63*, 908-909.

¹⁴⁰ DeRoy, P. L.; Charette, A. B. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4163-4165.

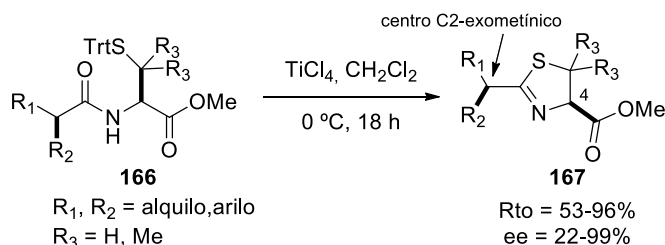
¹⁴¹ Walker, M. A.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5566-5568.

Como se indica en el Esquema 55, este proceso sólo se puede emplear para precursores que deriven de 2-metilcisteínas, ya que los centros estereogénicos cuaternarios no pueden racemizar.

La eficacia de este método quedó demostrada también en la síntesis total del (-)-tiangazol.¹⁴²

Método E: Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-protegidas empleando Ti(IV): Método de Kelly

El método de Heathcock fue modificado ocho años más tarde de su desarrollo por Kelly y col.¹⁴³ El tratamiento de amidas derivadas de cisteína con el grupo tiol protegido con tritilo **166**, con TiCl₄ produce un tándem desprotección y ciclación/deshidratación que conduce a las tiazolinas **167** en buenos rendimientos (Esquema 56).



Esquema 56. Ciclación de la *N*-(2-mercaptoetil)amida **166** activada por Ti(IV).

Aunque la sustitución del grupo bencilo por el tritilo para la protección del tiol convierte a este método en más práctico ya que tan sólo se requiere un paso, la principal limitación es la racemización de los centros estereogénicos C-4 y el carbono exometínico C-2, siendo éste más susceptible a la racemización.

Este método fue utilizado en la síntesis total de las lingbiabellinas A y B.¹⁴⁴

Método F: Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-protegidas empleando Ph₃PO y Tf₂O: método de Kelly modificado

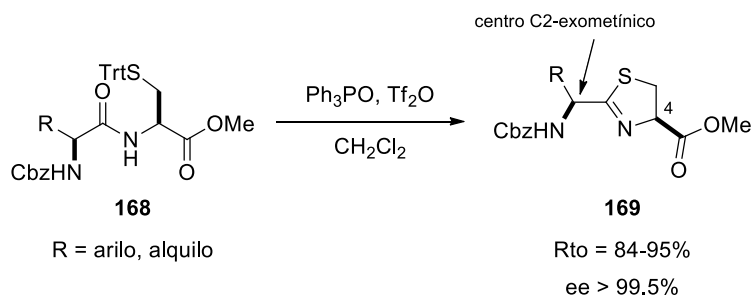
En el año 2003, Kelly publicó un procedimiento biomimético para la síntesis de tiazolinas en el que empleó trifluorometanosulfonato de hexafeniloxodifosfonio, formado a partir de óxido de trifenilfosfina y anhídrido triflico.¹⁴⁵ En este trabajo varias amidas *N*-protegidas derivadas de cisteínas (**168**) se sometieron a estas condiciones para formar las correspondientes tiazolinas **169** en excelentes rendimientos y con retención de la configuración de los átomos de carbono C-4 y C-2 exometínico (Esquema 57).

¹⁴² (a) Parsons, R. L.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4733-4734. (b) Akaji, K.; Kiso, Y. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 10685-10694.

¹⁴³ Raman, P.; Razavi, H.; Kelly, J. W. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3289-3292.

¹⁴⁴ Yokokawa, F.; Sameshima, H.; Katagiri, D.; Aoyama, T.; Shioiri, T. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9445-9458.

¹⁴⁵ You, S. L.; Razavi, H.; Kelly, J. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 83-85.

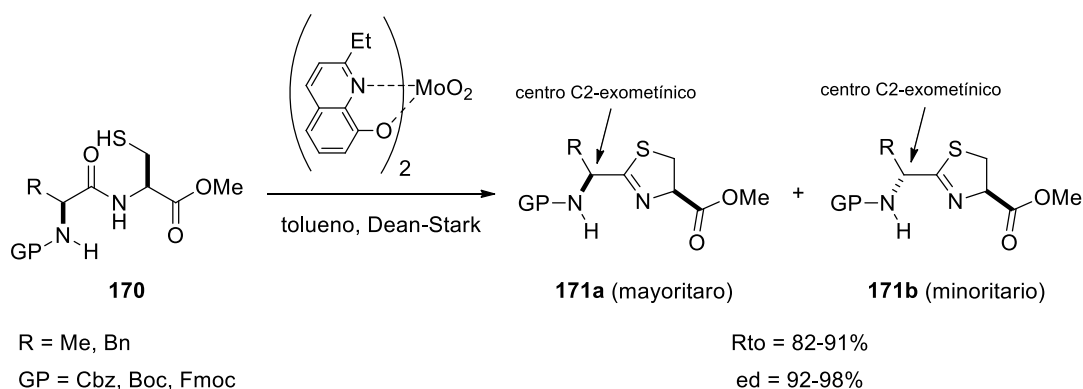


Esquema 57. Obtención de la tiazolina **169** mediante la ciclación de **168**.

Este método ha sido utilizado exitosamente en la síntesis total de varios productos naturales como las apratoxinas A¹⁴⁶ y D,¹⁴⁷ el largazol (**131**, Figura 40),¹⁴⁸ la haliptetina A,¹⁴⁹ las didmolamidas A y B,¹⁵⁰ la (*R*)-telomestatina¹⁵¹ o la dendroamida A.¹⁵²

Método G: Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas empleando Mo(IV)

En el año 2005, Ishihara y col. transformaron dipéptidos conteniendo cisteína con el grupo tiol desprotegido (**170**) en las correspondientes tiazolinas **171a** y **171b** empleando complejos de molibdeno en estado de oxidación (IV).¹⁵³ Utilizando estas condiciones se observó una epimerización del centro estereogénico exometínico C-2 menor del 6% (Esquema 58).



Esquema 58. Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas activadas por Mo(IV).

¹⁴⁶ (a) Doi, T.; Numajiri, Y.; Munakata, A.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 531-534. (b) Ma, D.; Zou, B.; Cai, G.; Hu, X.; Liu, J. O. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7615-7626.

¹⁴⁷ Robertson, B. D.; Wengryniuk, S. E.; Coltart, D. M. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5192-5195.

¹⁴⁸ Gosh, A. K.; Kulkarni, S. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3907-3908.

¹⁴⁹ Hara, S.; Makino, K.; Hamada, Y. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1081-1085.

¹⁵⁰ You, S. L.; Kelly, J. W. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2567-2570.

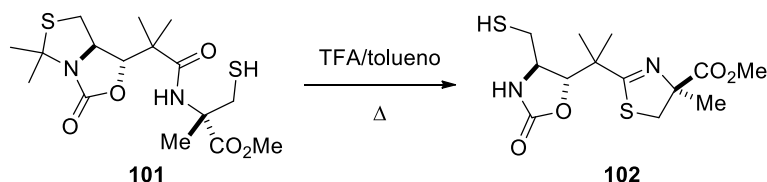
¹⁵¹ Doi, T.; Yoshida, M.; Shin-ya, K.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4165-4167.

¹⁵² You, S. L.; Kelly, J. W. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9506-9509.

¹⁵³ Sakakura, A.; Kondo, R.; Ishihara, K. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1971-1974.

Método H: Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas empleando TFA

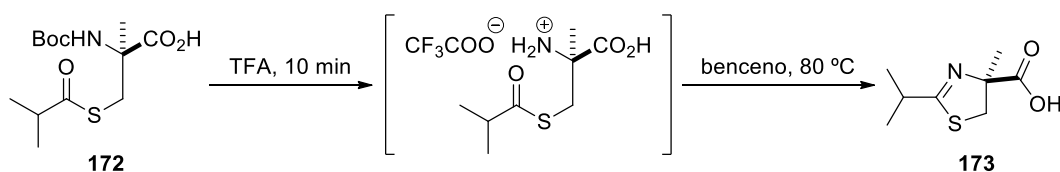
Como se ha mencionado anteriormente, en el año 1998, durante la síntesis total de micacocidina, Ino y col. lograron la síntesis de tiazolina **102** por tratamiento de la amida **101** con TFA en tolueno a reflujo (Esquema 59).^{100a}



Esquema 59. Ciclación de la *N*-(2-mercaptoetil)amida **101** mediante TFA/tolueno.

Método I: Ciclación de tioésteres

En el año 1993 Fukuyama y Xu desarrollaron un método para la síntesis de tiazolinas basado la ciclación de tioésteres inducida por ácido trifluoroacético en benceno a reflujo.¹⁵⁴ Como se muestra en el Esquema 60, la eliminación del grupo *tert*-butoxicarbonilo de **172** con TFA seguida del calentamiento a 80 °C en benceno proporcionó la tiazolina **173** empleada en la síntesis total del tantazol B.¹⁵⁴



Esquema 60. Ciclación del tioéster **172** mediante TFA en la síntesis total del tantazol B.

Este método también fue utilizado por Kukuyama y col. en la síntesis de oligotiazolinas cíclicas quirales (**174**, Figura 42).¹⁵⁵

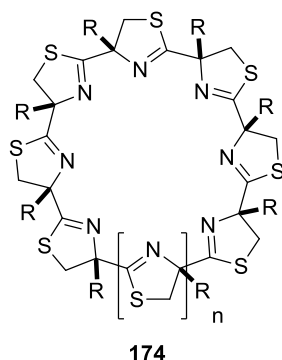


Figura 42. Estructura de oligotiazolinas cíclicas.

¹⁵⁴ Fukuyama, T.; Xu, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8449-8450.

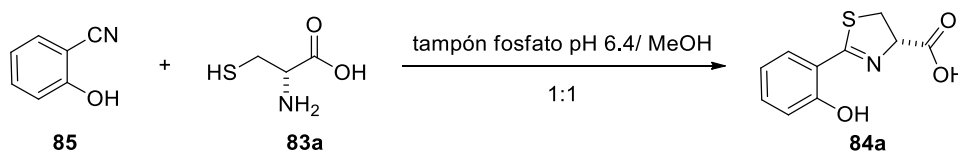
¹⁵⁵ (a) Han, F. S.; Osajima, H.; Cheung, M.; Tokuyamaab, H.; Fukuyama, T. *Chem. Commun.* **2006**, 1757-1759. (b) Han, F. S.; Cheung, M.; Tokuyamaab, H.; Fukuyama, T. *Chem. Commun.* **2007**, 3444-3446.

En general, suelen elegirse grupos protectores que se puedan eliminar en medio ácido, facilitándose que la desprotección y la reacción de ciclación/deshidratación pueda hacerse en un sólo paso. Debido a la acidez del medio, los centros estereogénicos tienen un alto riesgo de racemizar, por lo que este método sólo se puede aplicar a sustratos que posean centros estereogénicos cuaternarios.

En el año 2003 se desarrolló otro método eficiente para obtener tiazolinas 2,4-disustituidas a partir de tioésteres, reaccionando con un grupo azido en la posición β mediante una aza-Wittig intramolecular.¹⁵⁶ La principal ventaja de esta reacción, en la que se usa trifenilfosfina para la ciclación del anillo, es que transcurre bajo condiciones neutras, evitando la posible racemización de los centros estereogénicos.¹⁵⁷

Aparte de los métodos descritos anteriormente, también se pueden obtener tiazolinas oxidando los anillos de tiazolidina. En el año 2000 Duñach y col. publicaron la síntesis de 2-tiazolinas mediante la oxidación de sus correspondientes tiazolidinas usando hidroperóxido de *tert*-butilo como agente oxidante y rutenio como catalizador.¹⁵⁸ Al año siguiente publicaron otro trabajo en el que empleaban dióxido de manganeso como agente oxidante.¹⁵⁹

Por otra parte, diferentes autores han desarrollado métodos eficientes para preparar 2-aril-tiazolinas a partir de β -amino tioles. Un ejemplo ilustrativo es el descrito por Abdallah y col. en la síntesis de pioquelina.^{92a-d} Como se ha visto en el apartado 1.4 de este capítulo, los autores obtienen la tiazolina arílica (**84a**) mediante la condensación de 2-hidroxibenzonitrilo (**82**) con la D-Cys (**83a**) empleando una mezcla 1:1 tampón fosfato a pH 6.4/MeOH (Esquema 61).



Esquema 61. Formación de la 2-ariltiazolina **84a**.

Otro ejemplo es el desarrollado por Kamila y Biehl en el que obtienen estos heterociclos a partir de aminoetanotiol y arilcetonitrilos por irradiación con microondas,¹⁶⁰ o el método empleado por Katritzky y col. en el que también usan

¹⁵⁶ Chen, J.; Forsyth, C. J. *Org. Lett.* **2003**, 5, 1281-1283.

¹⁵⁷ (a) Sun, X.; Liu, Y.; Liu, J.; Gud, G.; Du, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 4271-4277. (b) Liu, Y.; Sun, X.; Zhang, X.; Liu, J.; Du, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 8453-8461. (c) Loos, P.; Ronco, C.; Riedrich, M.; Arndt, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3290-3315. (d) Liu, Y.; Liu, J.; Qi, X. B.; Du, Y. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7108-7113.

¹⁵⁸ Fernandez, X.; Fellou, R.; Duñach, E. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 3381-3384.

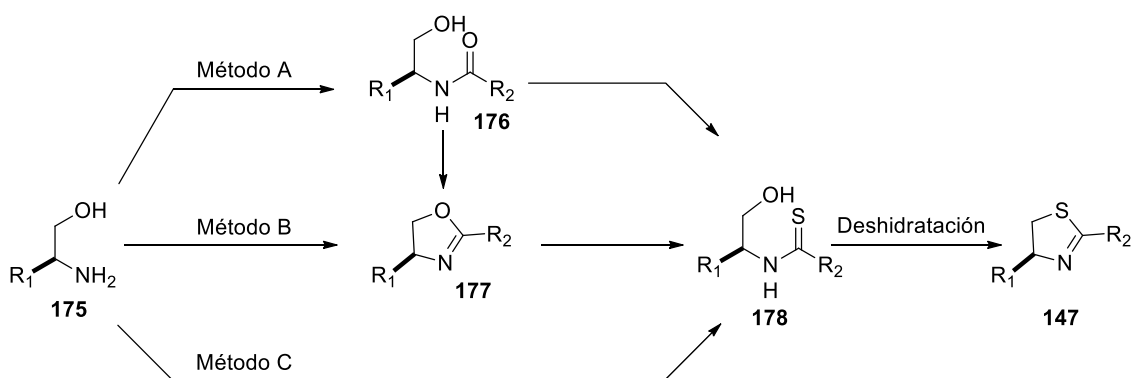
¹⁵⁹ Fernandez, X.; Duñach, E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1279-1286.

¹⁶⁰ Kamila, S.; Biehl, E. R. *J. Heterocyclic Chem.* **2007**, 44, 407-409.

microondas para sintetizar aril- y heteroaril-2-tiazolinas mediante la condensación de aminoetanotiol con *N*-acilbenzotriazoles en presencia de cloruro de tionilo.¹⁶¹

II. Síntesis de tiazolinas a partir de β -aminoalcoholes

Las tioamidas **178** son intermediarios clave en la síntesis de tiazolinas cuando se utilizan los aminoalcoholes **175** como productos de partida, existiendo tres métodos principales para su preparación (Esquema 62).¹⁶²



Esquema 62. Síntesis de tiazolinas a partir de β -aminoalcoholes.

Estos tres métodos prácticos son: el método A, que consiste en convertir las amidas precursoras **176** en las tioamidas **178** usando agentes como el reactivo de Lawesson o pentasulfuro de fósforo; el método B, en el que se lleva a cabo la tiolisis de la oxazolina **177** y el método C, en el que se emplean reactivos que al acoplarse con el aminoalcohol **175** se obtiene la tioamida **178** directamente.

Una vez obtenido el intermediario **178**, la tiazolina **147** se formará mediante un proceso de ciclación/deshidratación, en el que el grupo hidroxilo se convertirá en un buen grupo saliente, mientras que el azufre actuará como nucleófilo para completar la ciclación.

¹⁶¹ Katritzky, A. R; Cai, C.; Suzuki, K.; Singh, S. K. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 811-814.

¹⁶² Jagodzinski, T. S. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 197-227.

2. OBJETIVOS

El objetivo último que se pretende alcanzar en este capítulo, es el desarrollo de un esquema sintético para la obtención de piscibactina (**79**), sideróforo producido por la bacteria *P. damsela* subsp. *piscicida*, que permita disponer de métodos sintéticos adecuados para la preparación de análogos y conjugados que puedan ser utilizados en el desarrollo de nuevos tratamientos contra la pasteurelosis. Su síntesis total permitirá además, confirmar su estructura y obtener suficiente cantidad para realizar bioensayos adicionales.

Teniendo en cuenta la similitud estructural entre este sideróforo y prepiscibactina (**80**), un posible intermedio en su ruta biosintética, se abordará en primer lugar la preparación de éste, ya que además de servir como modelo para la síntesis de piscibactina, servirá para confirmar la estructura propuesta y determinar su configuración absoluta.

Por tanto, los objetivos concretos planteados son:

A) Síntesis total de prepiscibactina (**80**)

Es un compuesto con cuatro centros quirales que presenta en su estructura un grupo fenol, un anillo de tiazolina y un biciclo formado por una tiazolidina y una γ -lactama (Figura 43).

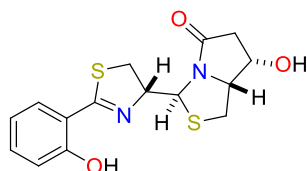


Figura 43. Estructura de prepiscibactina (**80**).

B) Síntesis total de piscibactina (**79**)

El sideróforo **79** posee cinco centros quirales y está formado por un grupo fenol, dos anillos de tiazolina y uno de tiazolidina (Figura 44).

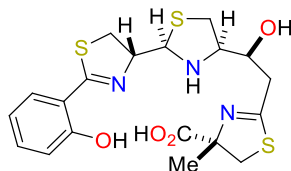
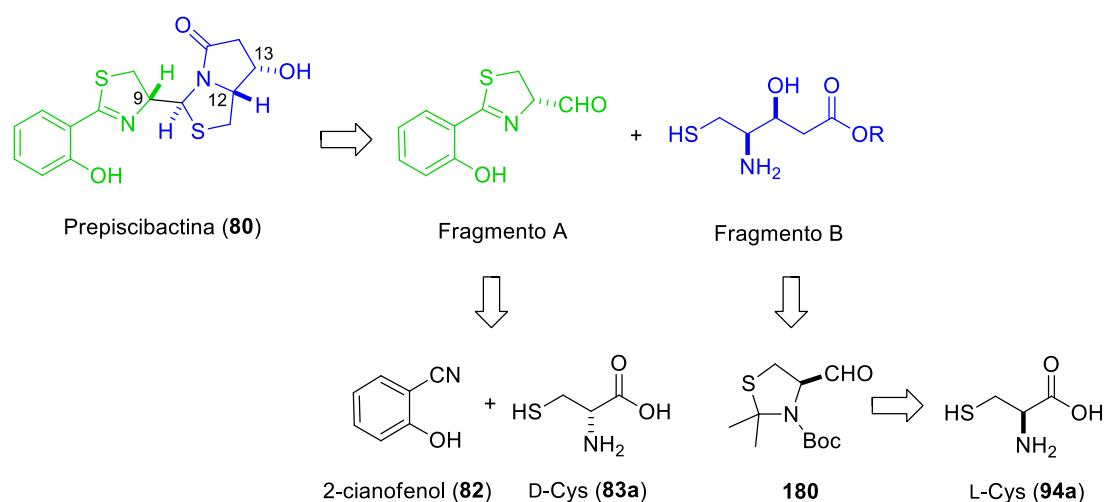


Figura 44. Estructura de piscibactina (**79**).

3. SÍNTESIS TOTAL DE PREPISCIBACTINA

Se diseñó un análisis retrosintético para prepiscibactina en el que el producto se sintetizaría mediante una estrategia convergente a partir de dos fragmentos, A y B (Esquema 63). De esta forma el anillo de tiazolidina se formaría por condensación de un aldehído (fragmento A) con un β -aminotiol (Fragmento B), ya que éste es el método más habitual para formar estos heterociclos.¹²⁹ Se planteó el uso de D-cisteína y L-cisteína como fuentes quirales para controlar la estereoquímica de los centros C-9 (*R*) y C-12 (*R*), respectivamente, mientras que la configuración del hidroxilo secundario de la posición C-13 (*S*) se generaría mediante una reacción de Reformatsky estereoselectiva basada en la formación de un complejo a partir de Sml_2 . Finalmente, la formación asimétrica del anillo tiazolidínico utilizando Zn^{2+} , controlaría la quiralidad de la posición C-10.



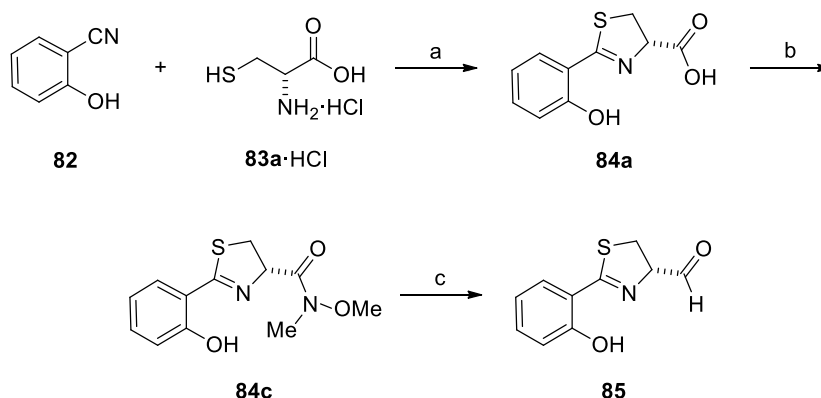
Esquema 63. Análisis retrosintético para la síntesis de prepiscibactina (80) a partir de cisteína y 2-cianofenol.

3.1. Síntesis del fragmento A

Siguiendo un procedimiento similar al empleado por Mislin y col. para la síntesis de diferentes derivados de pioquelina,^{92c-e} se llevó a cabo la obtención del fragmento A (Esquema 64).

La síntesis de este fragmento comenzó con la condensación de 2-cianofenol (82) y el hidrocloreto de la D-cisteína (83a·HCl), para formar el ácido carboxílico **84a** con rendimiento cuantitativo. La señal más característica de **84a** en el espectro de RMN de ^1H es un triplete ($J = 8.7 \text{ Hz}$) a 5.37 ppm, correspondiente al protón α -carboxílico, que indicó la formación del anillo. El posterior tratamiento **84a** con el hidrocloreto de *N,O*-dimetilhidroxilamina en medio básico (DIPEA) y en presencia del agente acoplante EDC·HCl dio lugar a la amida de Weinreb **84c** con un rendimiento del 67%. En su espectro de RMN de ^1H se observó la aparición de dos singuletes a 3.83 y 3.29 ppm,

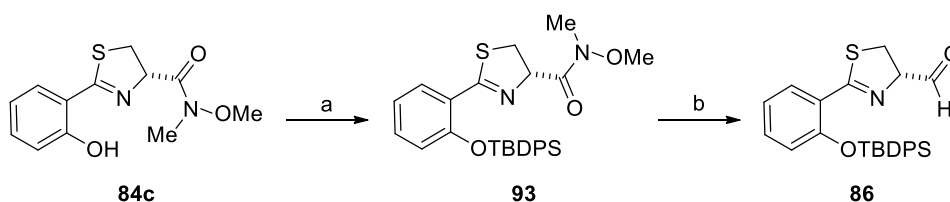
correspondientes a los grupos metoxilo y metilo respectivamente, indicando la formación de la amida.



Esquema 64. *Reactivos y condiciones:* (a) Tampón fosfato pH 6.4/MeOH (1:1) (cuantitativo); (b) MeHNOMe·HCl, EDC·HCl, DIPEA, CH₂Cl₂ (67%); (c) LiAlH₄, Et₂O, -20 °C (95%).

La reducción de la amida de Weinreb **84c** con hidruro de litio y aluminio en Et₂O a baja temperatura (-20 °C), permitió obtener el aldehído **85** con un excelente rendimiento sin observar epimerización. El espectro de RMN de ¹H de **85** mostró una señal a 9.89 ppm correspondiente al protón del aldehído, mientras que en el espectro de RMN de ¹³C se observó que la señal del grupo carbonilo se desplaza a valores de δ más altos (196.4 ppm), confirmando su obtención. Este aldehído es muy sensible y se usó inmediatamente y sin más purificación en el siguiente paso sintético.

Con el fin de estudiar la influencia que ejerce el grupo OH fenólico libre en la condensación de **85** con el fragmento B, se llevó a cabo la síntesis del análogo protegido como éter de silicio (Esquema 65).



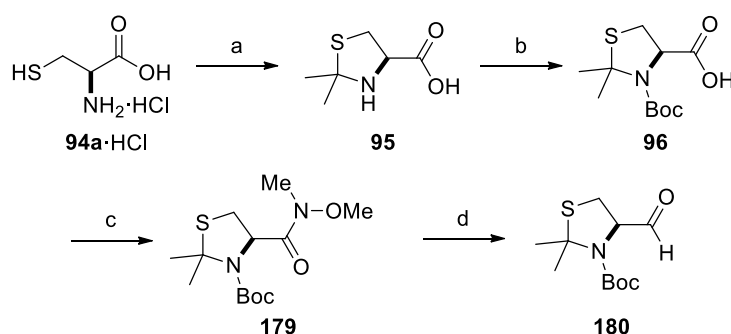
Esquema 65. *Reactivos y condiciones:* (a) TBDPSCI, Imid., DMF (62%); (b) LiAlH₄, Et₂O, -20 °C (95%).

En el primer intento de proteger el grupo fenol del compuesto **84c** se empleó TBDMSCl e imidazol en DMF,^{115c} pero debido a la labilidad del enlace C—Si de este grupo protector, se observó la desprotección de gran parte del producto después de someterse a purificación en gel de sílice. Se probó entonces con TBDPSCI en las mismas condiciones, obteniendo **93** con un rendimiento del 62%. La aparición de las señales en torno a 7.5 ppm y el singulete a 1.12 ppm en su espectro de RMN de ¹H confirmaron la introducción del grupo protector.

La reducción de **93** empleando la misma metodología que con su análogo desprotegido, permitió obtener el aldehído **86** con un rendimiento del 95%. Su estructura se confirmó por RMN de ^1H al observarse la desaparición de los singuletes a 3.87 y 3.32 ppm, correspondientes a los grupos metoxilo y metilo de la amida **93** y la aparición de un singlete a 9.82 ppm, correspondiente al protón del aldehído.

3.2. Síntesis del fragmento B

De forma paralela, se siguió con la preparación del fragmento B. Para ello se comenzó con la obtención del aldehído **180** a partir del hidrocloreto de la L-cisteína (**94a**·HCl) mediante una estrategia similar a la empleada por Duthaler y col.¹⁶³ (Esquema 66). El primer paso supuso la protección de los grupos tiol y amino de la L-cisteína en forma de acetónido y carbamato, respectivamente. La protección de estos dos grupos del aminoácido, además de disminuir la reactividad, facilita su aislamiento y solubilidad. Para nuestro propósito se eligieron los grupos isopropilidenilo y *tert*-butoxicarbonilo porque necesitamos que éstos resistan condiciones básicas, ya que la eliminación de ambos suele realizarse fácilmente a pH bajo.



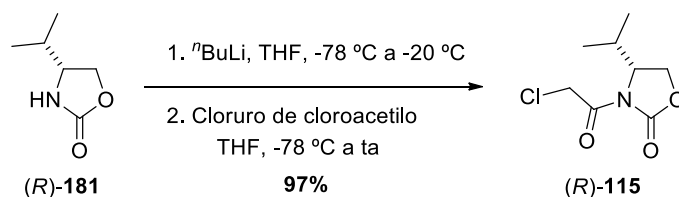
Esquema 66. *Reactivos y condiciones:* (a) 2,2-dimetoxipropano, acetona (88%); (b) Boc_2O , Py (65%); (c) $\text{MeHNOMe}\cdot\text{HCl}$, $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$, DIPEA, CH_2Cl_2 (71%); (d) LiAlH_4 , Et_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$ (98%).

El tratamiento de **94a**·HCl comercial con 2,2-dimetoxipropano en acetona rindió el acetónido **95** con un rendimiento del 88%, protegiéndose a continuación el grupo amino como *tert*-butoxicarbonilo empleando dicarbonato de di-*tert*-butilo en piridina. El ácido **96**, obtenido con un 65% de rendimiento, fue usado sin más purificación en el siguiente paso para obtener la amida de Weinreb **179** con un rendimiento del 71% empleando unas condiciones similares a las usadas para obtener **84c**. La reducción de la amida **179** con hidruro de litio y aluminio en Et_2O a $0\text{ }^\circ\text{C}$ dio lugar al aldehído **180** en un 98% de rendimiento. Es de destacar que la reacción no evolucionaba usando el agente reductor como reactivo limitante, como lo indica la publicación, por lo que se tuvo que usar un exceso de hidruro de litio y aluminio (3 eq.). La comparación de los datos

¹⁶³ Duthaler, R. O.; Wyss, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 4667–4680.

espectroscópicos del producto obtenido coincidió con los recogidos en la bibliografía para este compuesto.

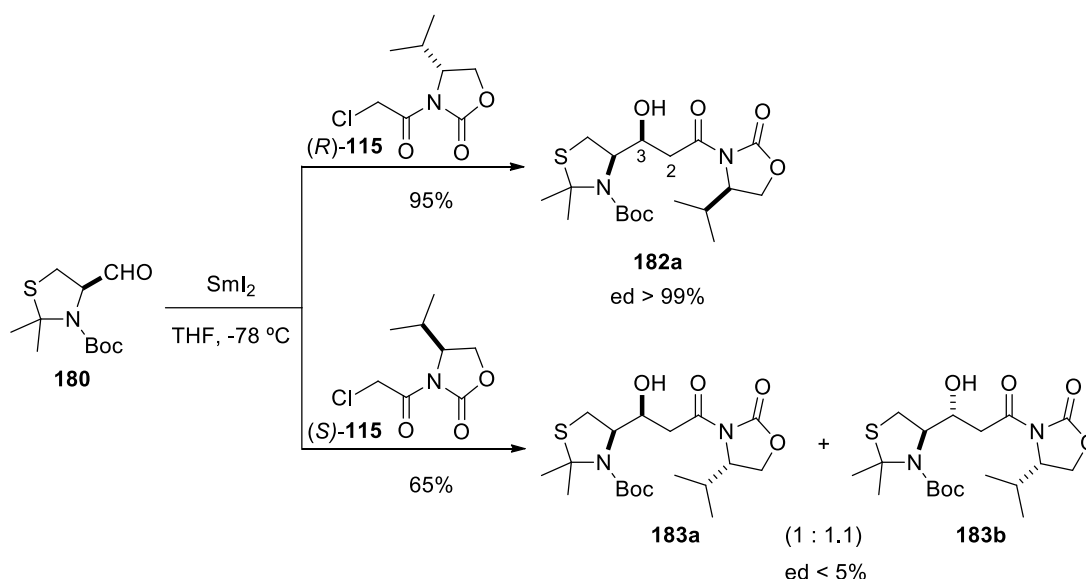
Al mismo tiempo, se llevó a cabo la formación de (*R*)-3-(2-cloroacetil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona ((*R*)-**115**) a partir de la oxazolidinona de Evans (*R*)-**181** mediante el uso de la metodología desarrollada por Roush y Brown (Esquema 67).¹⁶⁴ De este modo, el tratamiento del auxiliar quiral, de configuración *R*, con ^{*n*}BuLi y cloruro de cloroacetilo en THF a baja temperatura dio lugar a (*R*)-**115** con un rendimiento del 97%.



Esquema 67. Obtención de (*R*)-115.

Una vez sintetizados el aldehído **180** y el cloruro (*R*)-**115**, la obtención diastereoselectiva del aminoalcohol **182a** mediante la reacción de Reformatsky en presencia de SmI_2 , fue un paso clave en la síntesis de prepiscibactina. Como en esta reacción el enolato se forma bajo condiciones neutras, se evita la posible racemización del aminoaldehído **180**.

Con objeto de estudiar la diastereoselectividad de esta reacción, se llevaron a cabo dos reacciones en paralelo empleando los dos enantiómeros del reactivo de Evans (*R*)-**115** y (*S*)-**115** (Esquema 68).



Esquema 68. Síntesis de los alcoholes 182a y 183a-b mediante una reacción de Reformatsky utilizando SmI_2 .

¹⁶⁴ Roush, W. R.; Brown, B. B. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2162–2172.

El tratamiento del aldehído **180** recién preparado, con el cloruro (*R*)-**115** y 3 eq. de SmI_2 , preparado *in situ* a partir de yodo y samario, en THF a $-78\text{ }^\circ\text{C}$,¹¹⁹ supuso la obtención del alcohol secundario **182a**, de configuración *S*, con un 95% de rendimiento y de forma altamente diastereoselectiva (ed > 99%), como se pudo observar tanto por HPLC como por RMN. En la Figura 45 se muestra el cromatograma de HPLC del crudo de la reacción donde se observa un diastereoisómero mayoritario.

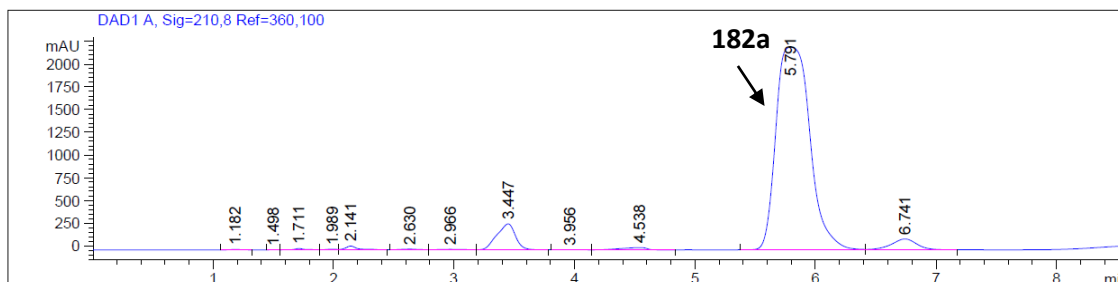


Figura 45. Cromatograma de HPLC del crudo de reacción de **182a** ($t_R = 5.79\text{ min}$) a $\lambda = 210\text{ nm}$.

La diastereoselectividad y el rendimiento conseguidos en esta reacción fueron mucho mayores que los resultados publicados por Burke y col. sobre las adiciones de α -haloacetil-2-oxazolidinonas a *N*-Boc-(*S*)-prolinal.¹¹⁹

La estructura de **182a** se confirmó utilizando técnicas monodimensionales de RMN ^1H , ^{13}C y DEPT-135, junto con experimentos 2D-RMN: ^1H - ^1H COSY, HSQC y HMBC. El espectro de RMN de ^1H mostró la formación de un grupo hidroxilo al observarse la desaparición de la señal a 9.58 ppm, correspondiente al protón del aldehído de **180**, y la aparición de un triplete ($J = 6.5\text{ Hz}$) a 4.54 ppm, que se asignó al protón H-3. Adicionalmente se observó el desplazamiento a menos frecuencia de las señales de los protones H-2 (α -carbonílicos) a 3.19 ppm y 2.83 ppm, en relación con las del cloruro (*R*)-**115**, y la aparición de las señales características del auxiliar quiral (4.43, 4.27, 4.21, 2.38, 0.91 y 0.88 ppm). Su espectro de RMN de ^{13}C también confirmó la presencia del grupo hidroxilo en C-3, al mostrar la señal de un carbono CH a 70.6 ppm.

Por otro lado, cuando la reacción de Reformatsky en presencia de SmI_2 se llevó a cabo con (*S*)-3-(2-cloroacetil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona ((*S*)-**115**), obtenido en las mismas condiciones que las empleadas para la obtención de (*R*)-**115**, y el aldehído **180**, no se observó diastereoselectividad significativa (ed < 5%). Se obtuvo una mezcla de los dos diastereoisómeros **183a** y **183b** en una proporción 1:1.1, tal como se dedujo de la relación de áreas de sus respectivas señales en el cromatograma de HPLC del crudo de la reacción (Figura 46). Estos resultados confirman que la diastereoselectividad de la reacción depende de la estereoquímica del auxiliar empleado.

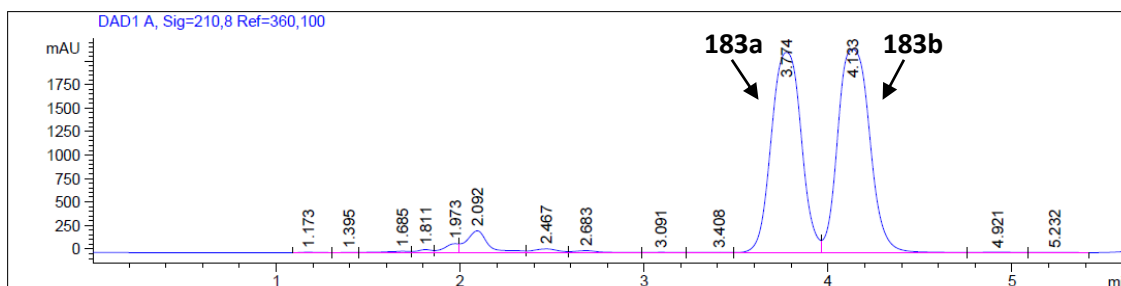


Figura 46. Cromatograma de HPLC del crudo de reacción de **183a** ($t_R = 3.77$ min) y **183b** ($t_R = 4.13$ min) a $\lambda = 210$ nm (**183a:183b** 1:1).

Según el trabajo realizado por Fukuzawa y col. la estereoquímica del centro asimétrico formado, se puede justificar suponiendo un estado de transición Nerz-Stormes-Thornton de tipo silla.¹¹³ Teniendo en cuenta esto, en el estado de transición propuesto al utilizar (*R*)- α -cloroacetil-2-oxazolidinona ((*R*)-**115**) como inductor quiral, el ataque del enolato por la cara *Re* del aldehído está desfavorecido debido al impedimento estérico producido por el grupo *iso*-propilo del auxiliar quiral (Figura 47).

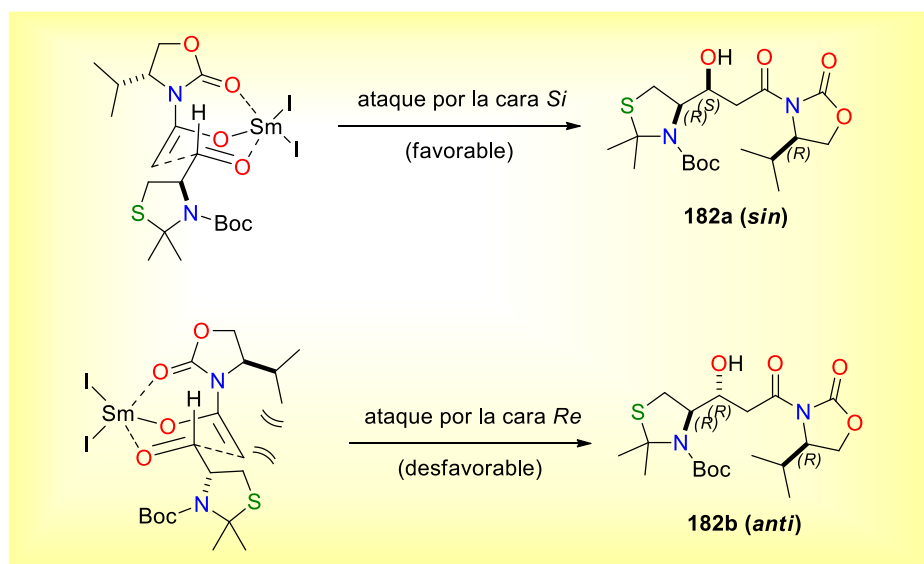
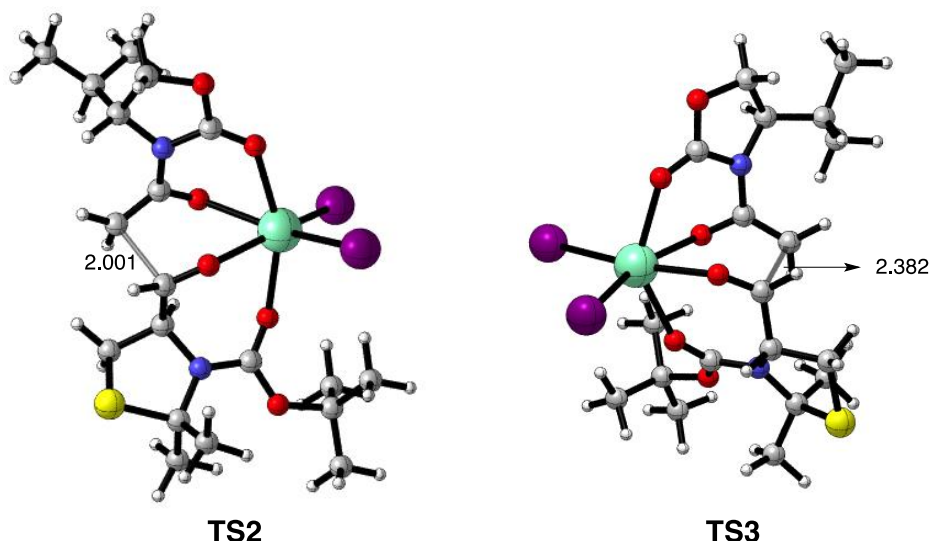


Figura 47. Estados de transición potulados por Fukuzawa¹¹³ y sus correspondientes productos usando como inductor quiral (*R*)-**115**.

Los cálculos computacionales DFT realizados para un modelo similar explican la alta diastereoselectividad encontrada para el compuesto con estereoquímica relativa *sin* (**182a**) al utilizar (*R*)-**115**.¹⁶⁵ En la Figura 48 se muestran los estados de transición **TS2** y **TS3** asociados a la formación de **182a** y **182b**, respectivamente. En ambos casos el carbonilo del grupo protector *tert*-butoxicarbonilo se coordina también al samario. El estado de transición **TS2** es mucho más bajo en energía que **TS3** ($\Delta\Delta G_{298} = 16.5$ kcal/mol),

¹⁶⁵ Los cálculos computacionales a nivel DFT fueron realizados por Israel Fernández López del Departamento de Química Orgánica I de la Universidad Complutense de Madrid.

lo que se traduce en el exceso diastereomérico superior al 99% que se ha encontrado experimentalmente. La diferencia entre ambos estados de transición está en la repulsión que se propone en la Figura 47 para la formación de **182b**, ya que en **TS3** se observan distancias muy cortas entre los protones del grupo *iso*-propilo y el CH₂ reactivo (2.25 y 2.39 Å), lo que hace que en **TS3** la distancia entre los átomos que van a formar el enlace sea de 2.38 Å, mientras que en **TS2** es de 2.00 Å.



TS2 = estado de transición propuesto para la formación de **182a**. **TS3** = estado de transición propuesto para la formación de **182b**.

Figura 48. Cálculos computacionales a nivel DFT de los dos estados de transición usando como inductor quiral (*R*)-**115**.

Por otra parte, cuando se emplea el enantiómero del derivado clorado del auxiliar de Evans ((*S*)-**115**) debería haber dos estados de transición muy parecidos en energía, ya que en este caso no se observó diastereoselectividad significativa. Sin embargo, según el estado de transición propuesto por Fukuzawa y col., el ataque por la cara *Si* del aldehído está desfavorecido debido al impedimento estérico producido por el grupo *iso*-propilo del auxiliar quiral (Figura 49), implicando la formación diastereoselectiva del compuesto **182b**.

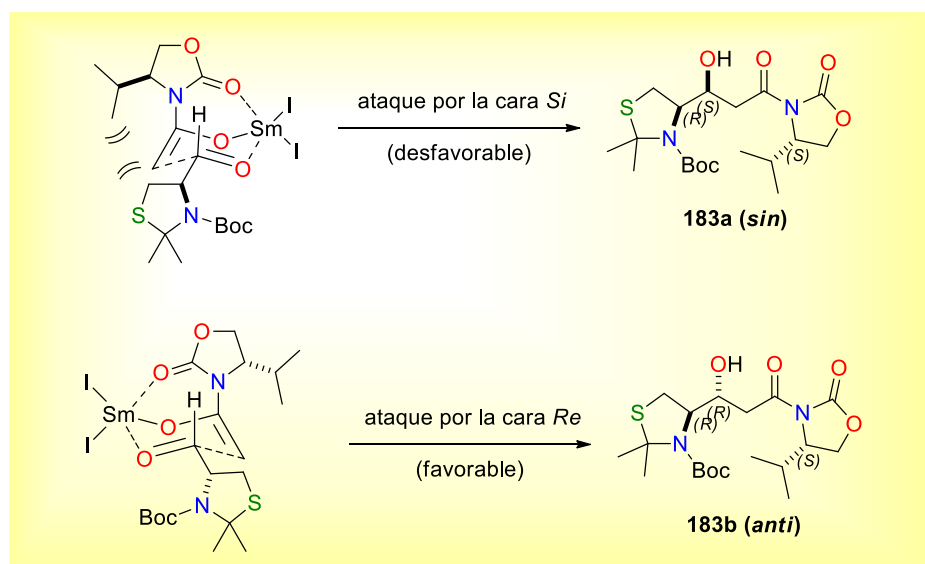
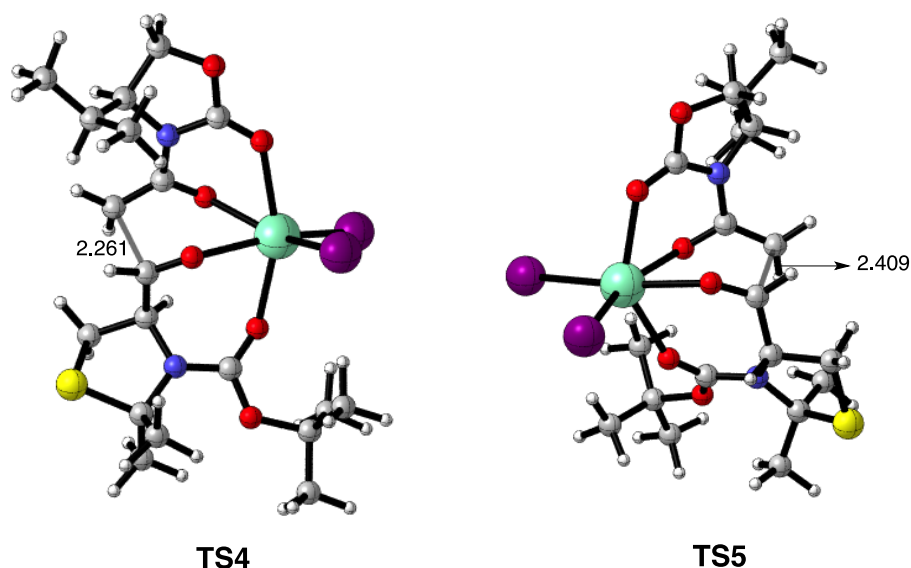


Figura 49. Estados de transición postulados por Fukuzawa¹¹³ y sus correspondientes productos usando como inductor quiral (*S*)-**115**.

Adicionalmente, al realizar los cálculos DFT para un modelo similar (Figura 50), se observó que los metilos del grupo *iso*-propilo se disponen de tal forma que la interacción en **TS4** (estado de transición asociado a la formación **183a**), no es tan desfavorable como la que se propone en la Figura 49, siendo **TS5** mucho más alto en energía ($\Delta\Delta G_{298} = 11.4$ kcal/mol). Esto implicaría la formación diastereoselectiva del compuesto **183a**, que no se corresponde ni con lo propuesto por Fukuzawa y col., ni con lo observado experimentalmente.

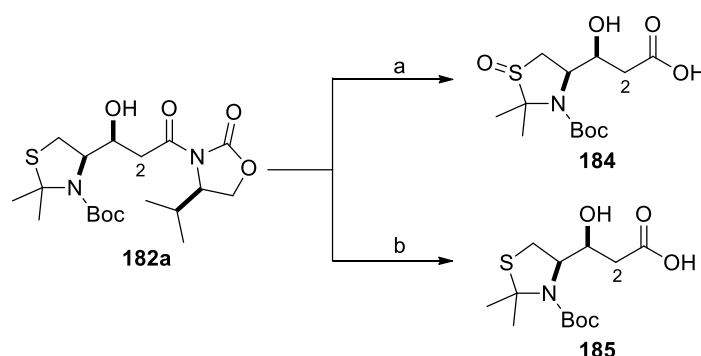


TS4 = estado de transición propuesto para la formación de **183a**. **TS5** = estado de transición propuesto para la formación de **183b**.

Figura 50. Cálculos computacionales a nivel DFT de los dos estados de transición usando como inductor quiral (*S*)-**115**.

En vista a estos resultados se puede concluir que tanto el estado de transición propuesto por Fukuzawa y col., como los modelos empleados en los cálculos DFT, no se corresponden con lo observado experimentalmente. Por tanto, es necesario realizar estudios adicionales más profundos con el fin de establecer una propuesta de mecanismo que explique los resultados experimentales.

Como se verá en el apartado 3.5 de este capítulo, la configuración relativa *sin* de **182a** y **183a** y *anti* de **183b** fue determinada después de aplicar el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento homonucleares ^1H - ^1H y heteronucleares ^1H - ^{13}C .⁴³ Debido a la complejidad de los espectros de RMN de la β -hidroxicarboximida **182a**, la determinación de la configuración del alcohol secundario se realizó aplicando esta metodología sobre el correspondiente producto hidrolizado, el ácido **185** (Esquema 69).



Esquema 69. *Reactivos y condiciones:* (a) H_2O_2 , LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1), 0°C (86%); (b) LiOH , $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1), 0°C (96%).

Con el fin de obtener el ácido **185**, en primer lugar se intentó llevar a cabo la eliminación del auxiliar quiral mediante la hidrólisis del compuesto **182a** con LiOH en presencia de H_2O_2 a 0°C .¹⁶⁶ Pero según se pudo comprobar por espectrometría de masas, en estas condiciones de reacción el azufre se oxida a sulfóxido, por lo que, para evitar esta oxidación se empleó sólo LiOH en $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$,¹⁶⁷ lo que condujo al ácido buscado de forma quimioselectiva en un 96% de rendimiento.

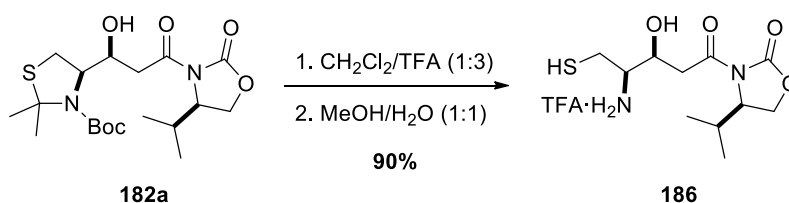
El espectro de RMN de ^1H de **185** confirmó la obtención del producto de hidrólisis al mostrar el desplazamiento a menos frecuencia de los protones diastereotópicos H-2 a 2.68 y 2.49 ppm y la desaparición de todas las señales correspondientes al auxiliar quiral. Además el espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia del ácido carboxílico al observarse el desplazamiento a mayor frecuencia (175.8 ppm) de la señal asignada al carbono carbonílico C-1. Por otra parte, la aparición del ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 306.1373

¹⁶⁶ Kelly, N. M. R.; Reid, G.; Willis, C. L.; Winton, P. L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1517-1520.

¹⁶⁷ Davies, S. G.; Dixon, D. J.; Doisneau, G. J. M.; Prodger, J. C.; Sangane, H. J. *Tetrahedron Asymmetry* **2002**, 13, 647-658.

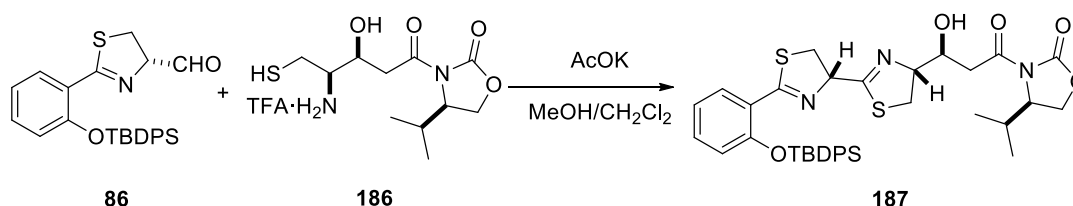
(masa calculada para $C_{13}H_{24}NO_5S$: 306.1369) en su espectro (+)-ESIMS de alta resolución, indicó que el grupo tiol no se había oxidado en estas condiciones.

La síntesis de prepiscibactina (**80**) continuó con el intento de formación del anillo tiazolidínico presente en su estructura a partir del β -aminotiol **186** (Esquema 70). Para ello se realizó la desprotección de los grupo amino y tiol de **182a** empleando condiciones ácidas (TFA al 75% en CH_2Cl_2) para eliminar el Boc y una mezcla 1:1 MeOH/ H_2O para eliminar el acetónido. Después de ser purificado por HPLC en fase reversa, se obtuvo el aminotiol **186** con un rendimiento combinado del 90% para los dos pasos. El desplazamiento a menos frecuencia del multiplete a 4.38 ppm, correspondiente al protón H-4, junto con la desaparición de las señales a 1.79, 1.77 y 1.48 ppm en el espectro de RMN de 1H de **182a**, indicaron la eliminación de los grupos protectores del compuesto de partida.



Esquema 70. Obtención del aminotiol **186** a partir de **182a**.

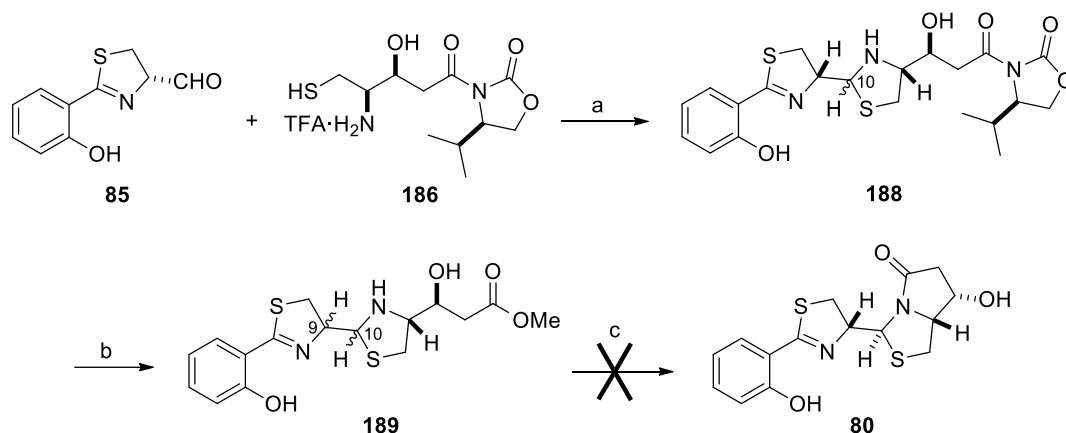
A continuación se procedió a los intentos de condensación del aminotiol **186** con los aldehídos **85** y **86**. Cuando se realizó la condensación de **186** con el aldehído protegido **86** empleando exceso de acetato potásico (7 eq.) en MeOH/ CH_2Cl_2 a temperatura ambiente,⁹² no se obtuvo la tiazolidina esperada, sino que se observó la formación de la ditiazolina **187** (Esquema 71). El espectro de masas de (+)-ESI confirmó la obtención de **187** al mostrar un pico a m/z 702.26, correspondiente al ión $[M+H]^+$.



Esquema 71. Obtención de la ditiazolina **187**.

En cambio, cuando la reacción del aminotiol **186** se llevó a cabo con el aldehído desprotegido **85** y utilizando acetato potásico en cantidad equimolar en metanol seco a 0°C ,¹⁶⁸ se obtuvo la tiazolidina **188** como una mezcla de dos epímeros en la posición C-10 (Esquema 72).

¹⁶⁸ Fernández, X.; Duñach, E. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 1279-1286.

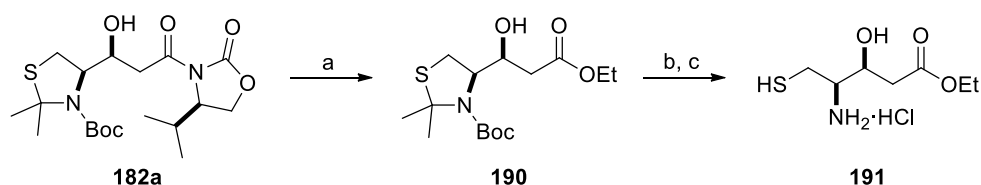


Esquema 72. *Reactivos y condiciones:* (a) AcOK, MeOH, 0 °C (96%); (b) MeOH, MeONa, 0 °C (65%); (c) tolueno, Δ .

El espectro de RMN de ^1H de **188** mostró una relación 1:1.5 de los dos diastereoisómeros al comparar las integrales del doblete ($J = 5.4$ Hz) a 4.92 ppm y del doblete ($J = 6.2$ Hz) a 4.77 ppm correspondientes a los protones H-10 del nuevo carbono asimétrico.

La eliminación del auxiliar quiral de la β -hidroxycarboximida **188** se llevó a cabo empleando una disolución metanólica de metóxido sódico a 0 °C,¹⁶⁹ obteniéndose el correspondiente éster metílico **189**. Además de observarse la epimerización del centro C-9, este compuesto resultó ser muy inestable y todos los intentos de ciclación para formar prepiscibactina (**80**) a partir del mismo, resultaron infructuosos. Una posible causa de la epimerización y/o descomposición de la tiazolidina es el pH fuertemente básico producido por el metóxido sódico utilizado en la reacción.

Por este motivo, se realizó una variación en la estrategia sintética invirtiendo los pasos sintéticos, es decir, eliminación secuencial del auxiliar quiral del aminotiol protegido **182a** para formar el éster etílico **190** y de los grupos *tert*-butoxicarbonilo e isopropilidenilo con el fin de obtener el β -aminotiol **191** (Esquema 73).



Esquema 73. *Reactivos y condiciones:* (a) EtONa, EtOH, 0 °C (80%); (b) 1. $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (1:3), 2. MeOH/ H_2O (1:1); (c) PPh_3 , $\text{HCl}_{(\text{c})}$, dioxano/ H_2O (3:1) (71%, 3 pasos).

La transesterificación de **182a** empleando una disolución etanólica de etóxido sódico a 0 °C,¹¹³ permitió obtener el correspondiente éster etílico **190** con un alto

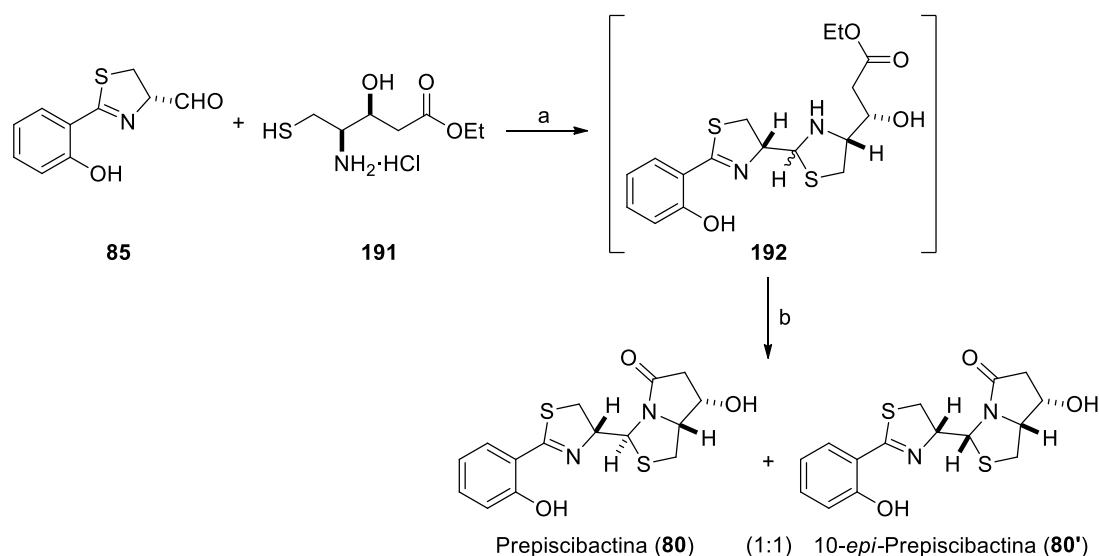
¹⁶⁹ Trotter, N. S.; Takahashi, S.; Nakata, T. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 957-959.

rendimiento (80%) y sin que se observase racemización. El espectro de RMN de ^1H del producto obtenido indicó la eliminación de la oxazolidinona de Evans al observarse la desaparición de las señales a 4.43, 4.27, 4.21, 0.91 y 0.88 ppm, correspondientes al auxiliar quiral y la aparición de un triplete ($J = 7.2$ Hz) a 1.28 ppm y un cuadruplete ($J = 7.2$ Hz) a 4.18 ppm correspondientes al grupo etilo.

El tratamiento de **190** primero con TFA en CH_2Cl_2 y después con $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ para eliminar los grupos protectores Boc e isopropilidenilo, respectivamente, condujo a una mezcla del tiol **191** y el correspondiente producto dimerizado, según se pudo comprobar por el espectro de masas. Debido a la formación de este dímero, a través de un puente disulfuro, la mezcla (monómero y dímero) fue tratada con PPh_3 y $\text{HCl}_{(\text{c})}$ en presencia de dioxano/ H_2O para obtener el correspondiente tiol **191**, lográndose un rendimiento del 71% para los dos pasos. La desaparición en su espectro de RMN de ^1H de los singuletes a 1.78, 1.79 y 1.49 ppm confirmó la desprotección del aminotiol y la aparición del pico a m/z 194.0842 en su espectro (+)-HR-ESIMS, correspondiente al ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ (masa calculada para $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NO}_3\text{S}$: 194.0845), corroboró la ruptura del dímero.

3.3. Condensación de los fragmentos A y B: síntesis estereocontrolada de prepiscibactina

Una vez obtenidos los fragmentos A y B, la condensación de ambos conduciría a un intermedio muy inestable cuya ciclación intramolecular proporcionaría prepiscibactina (Esquema 74).



Esquema 74. Reactivos y condiciones: (a) AcOK , MeOH 0°C ; (b) tolueno, Δ (52% para los 2 pasos).

La condensación del aldehído **85** con el β -aminotiol **191** en presencia de acetato potásico en metanol a 0°C condujo a la tiazolidina **192** que, al ser muy inestable, se

sometió inmediatamente a reflujo en tolueno durante 2 horas para formar la γ -lactama deseada, obteniéndose prepiscibactina (**80**) y su epímero en la posición C-10 (10-*epi*-prepiscibactina, **80'**) con un rendimiento del 52% para los dos pasos. La relación entre prepiscibactina (**80**) y 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**) fue de 1:1, tal como se deduce del cromatograma de HPLC del crudo de reacción (Figura 51).

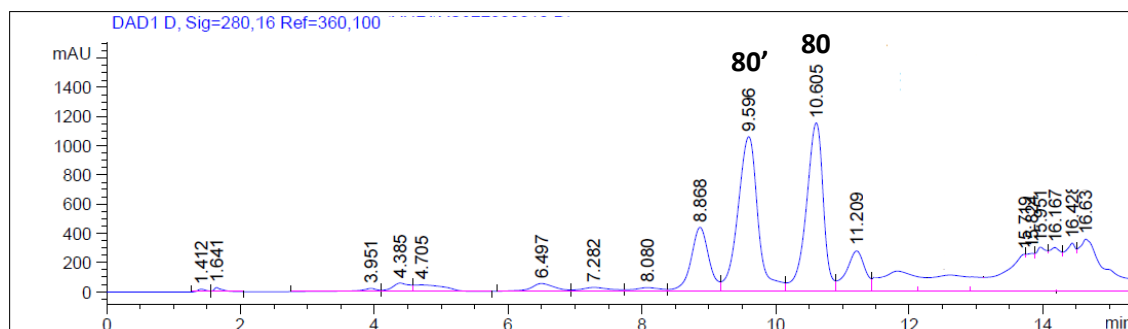
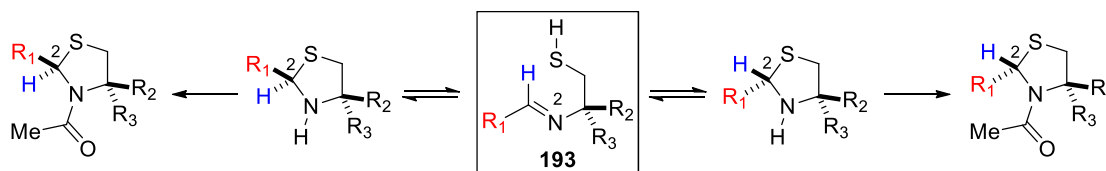


Figura 51. Cromatograma de HPLC del crudo de reacción del Esquema 74 (**80'**:**80** 1:1).

Para separar los dos diastereoisómeros **80** y **80'** se utilizó cromatografía de HPLC en fase reversa con una fase móvil que consistió en la siguiente secuencia: de 0 a 10 min, gradiente de 10% a 30% CH₃CN en H₂O; de 10 a 13 min isocrático 30% CH₃CN en H₂O; de 13 a 15 min gradiente de 30% a 100% CH₃CN en H₂O.

El tiempo de reacción y la temperatura fueron determinantes para obtener un resultado satisfactorio. Se observó que el intermedio **192** se empezaba a descomponer cuando la reacción se dejaba más de 4 horas o cuando se dejaba a temperaturas mayores de 0 °C.

El hecho de que la obtención de prepiscibactina (**80**) no ocurriese de forma diastereoselectiva, es debido a que las 2-tiazolidinas sustituidas se equilibran rápidamente en una mezcla 1:1 de epímeros en C-2 mediante un mecanismo de apertura/cierre del anillo, tal como se ha descrito previamente (Esquema 49).¹³⁰ Sin embargo, una vez que el nitrógeno se encuentra acilado, esta epimerización no se observa ya que este átomo no puede disponer de su par electrónico (Esquema 75).¹⁷⁰



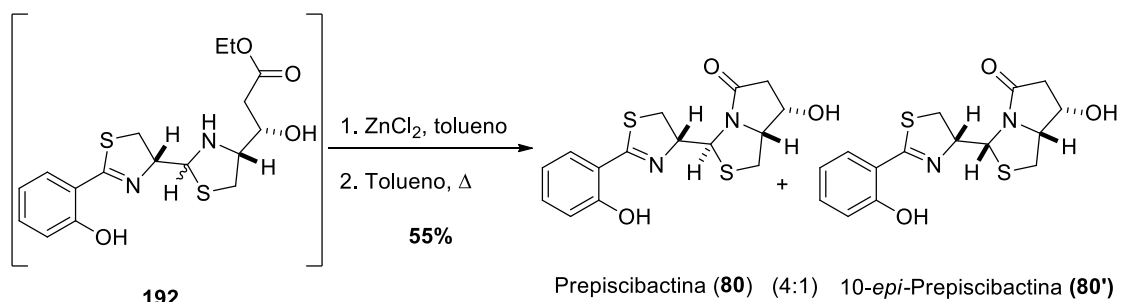
Esquema 75.

Una vez optimizadas las condiciones de obtención de los epímeros **80** y **80'**, se llevaron a cabo los intentos para conseguir una síntesis estereocontrolada del producto.

¹⁷⁰ Szilágyi, L.; Györgydeák, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 427-432.

Para ello, en primer lugar se probó la reacción de ciclación usando como catalizador trifluorometanosulfonato de escandio,¹⁷¹ pero el resultado fue infructuoso.

Afortunadamente cuando aplicamos la metodología utilizada por Ino y Murabayashi en la síntesis total de yersiniabactina,⁹⁹ la relación diastereomérica conseguida entre prepiscibactina y 10-*epi*-prepiscibactina fue de 4:1 (Esquema 76). Este resultado tan exitoso se consiguió al tratar el intermedio tiazolidínico **192** con Cl₂Zn en tolueno seguido de reflujo en el mismo disolvente.



Esquema 76. Síntesis estereocontrolada de prepiscibactina (**80**).

En la Figura 52 se muestra el cromatograma de HPLC del crudo de reacción que muestra una relación 1:4 de los epímeros.

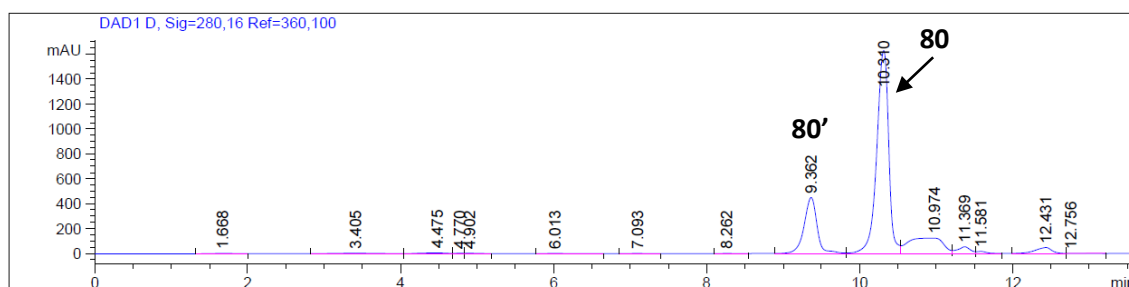


Figura 52. Cromatograma de HPLC del crudo de reacción del Esquema 76 (**80'**:**80** 1:4).

Creemos que el aumento de la diastereoselectividad en esta reacción es debido a la complejación del intermedio **192** con Zn(II), desplazando el equilibrio hacia la tiazolidina *trans* deseada, que seguidamente ciclaría para formar la γ -lactama **80** como diastereoisómero mayoritario.¹⁷²

De esta forma, hemos conseguido la síntesis de prepiscibactina (**80**) en 15 etapas sintéticas con un rendimiento global del 6% a partir de 2-cianofenol.

¹⁷¹ (a) Hiram, M.; Oishi, T.; Uehara, H.; Inoue, M.; Maruyama, M.; Oguri, H.; Satake, M. *Science* **2001**, 294, 1904–1907. (b) Yu, R. H.; Polniaszek, R. P.; Becker, M. W.; Cook, C. M.; Yu, L. H. L. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, 11, 972–980.

¹⁷² Segade, Y.; Montaós, M. A.; Rodríguez, J.; Jiménez, C. *Org. Lett.* **2014**, 16, 5820–5823.

3.4. Determinación estructural y comparación con el producto natural

Las estructuras **80** y **80'** se confirmaron por comparación de sus datos de RMN de ^1H y ^{13}C con los obtenidos para el producto natural. Como se puede observar en las Tablas 8 y 9, los datos espectroscópicos de prepiscibactina natural y el producto sintético **80**, son idénticos. Además, la espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución confirmó la obtención de estos epímeros con la aparición de los iones $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 337.0664 para **80** y a m/z 337.0677 para **80'** (masa calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: 337.0675).

Tabla 8. Datos de RMN ^1H (δ_{H} , multiplicidad, J en Hz) a 500 MHz en CD_3OD de prepiscibactina natural, prepiscibactina sintética (**80**) y 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**).

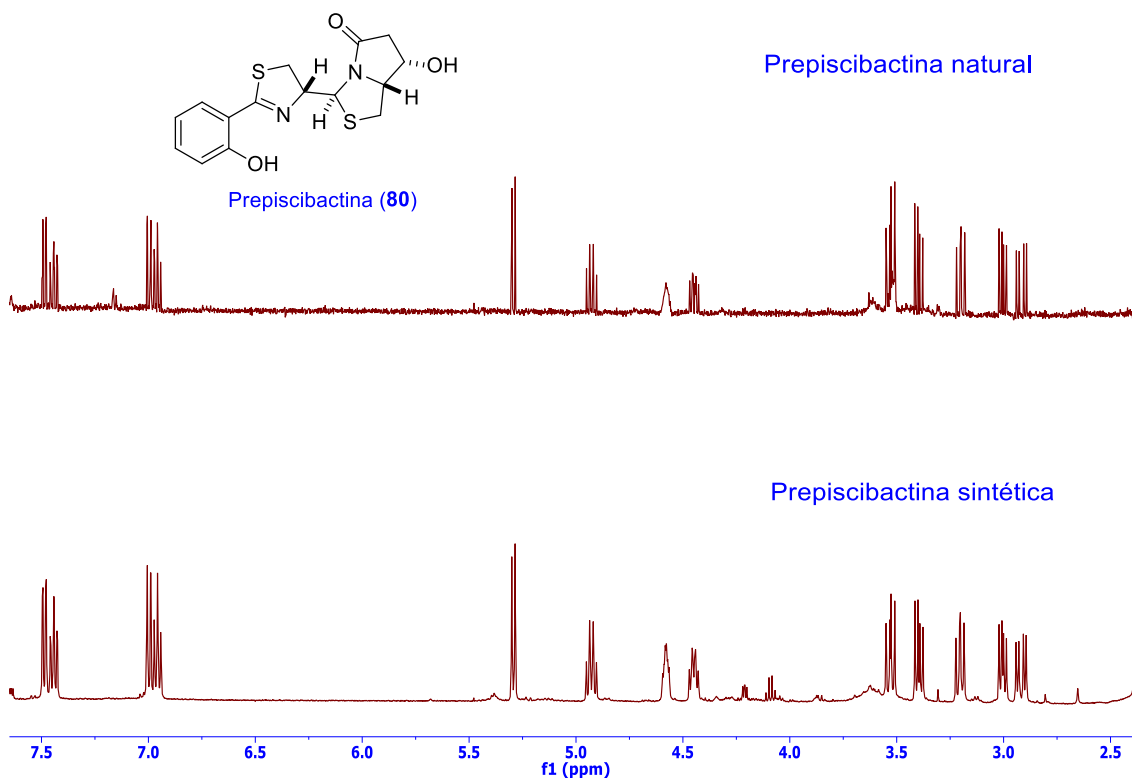
Protón	prepiscibactina natural	80	80'
1	—	—	—
2	6.95 dd (8.5, 1.0)	6.95 dd (8.4, 1.0)	6.98 dd (8.4, 1.1)
3	7.39 ddd (8.5, 7.6, 1.6)	7.39 ddd (8.4, 7.6, 1.7)	7.44 ddd (8.4, 7.6, 1.7)
4	6.91 ddd (7.8, 7.6, 1.0)	6.91 ddd (7.8, 7.6, 1.0)	6.94 ddd (7.8, 7.6, 1.1)
5	7.44 dd (7.8, 1.6)	7.44 dd (7.8, 1.7)	7.49 dd (7.8, 1.7)
6	—	—	—
7	—	—	—
8a	3.37 dd (11.4, 7.5)	3.37 dd (11.5, 7.3)	3.51 dd (11.2, 8.2)
8b	3.52 dd (11.4, 8.7)	3.52 dd (11.5, 8.9)	3.61 dd (11.2, 8.9)
9	4.98 ddd (8.7, 7.5, 7.2)	4.98 ddd (8.9, 7.3, 7.1)	5.01 ddd (8.9, 8.2, 4.8)
10	5.30 d (7.2)	5.30 d (7.1)	5.48 d (4.8)
11a	2.99 dd (10.6, 6.6)	2.99 dd (10.7, 6.5)	3.11 dd (10.4, 7.4)
11b	3.27 dd (10.6, 8.1)	3.27 dd (10.7, 8.2)	3.35 dd (10.4, 7.4)
12	4.53 ddd (10.6, 7.1, 5.4)	4.53 ddd (10.6, 7.1, 5.4) ^[a]	4.38 ddd (7.8, 7.4, 5.0)
13	4.56 ddd (6.0, 5.4, 2.3)	4.56 ddd (6.0, 5.4, ^[a] 2.3)	4.43 ddd (5.9, 5.0, 1.8)
14a	2.42 dd (17.2, 2.3)	2.42 dd (17.2, 2.2)	2.37 dd (17.2, 1.8)
14b	3.04 dd (17.2, 6.0)	3.04 dd (17.2, 6.0)	2.97 dd (17.1, 5.9)
15	—	—	—

[a] $J(\text{H}12, \text{H}13) = 5.4$ Hz fue deducida mediante simulación y confirmada en su espectro de RMN de ^1H en CD_3CN .

Tabla 9. Datos de RMN ^{13}C (δ_{C}) a 125 MHz en CD_3OD de prepiscibactina natural, prepiscibactina sintética (**80**) y 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**).

Carbono	multiplicidad	prepiscibactina natural	80	80'
1	C	160.2	160.2	160.3
2	CH	117.6	117.6	118.1
3	CH	134.5	134.5	135.6
4	CH	120.2	120.2	120.5
5	CH	131.7	131.7	131.9
6	C	116.9	117.3	116.6
7	C	175.2	175.2	175.4
8	CH_2	34.7	34.7	34.0
9	CH	82.5	82.5	80.8
10	CH	63.1	63.1	62.8
11	CH_2	30.4	30.4	30.2
12	CH	70.4	70.4	70.6
13	CH	66.7	66.7	67.2
14	CH_2	43.9	43.9	44.3
15	C	175.6	175.5	177.4

En la Figura 53 se muestra como los espectros de RMN de ^1H (500 MHz) en CD_3CN del compuesto **80** y del producto natural son idénticos.

**Figura 53.** Comparación entre los espectros de RMN de ^1H de prepiscibactina sintética y prepiscibactina natural (500 MHz, CD_3CN).

En cuanto a la estereoquímica de los compuesto **80** y **80'**, la comparación de los espectros de dicroísmo circular (CD) de ambos con el producto natural, así como el valor de rotación óptica, permitió determinar su configuración absoluta. Las curvas CD de los tres compuestos son comparables porque los máximos y mínimos aparecen a las mismas longitudes de onda, concretamente entre 260 y 325 nm. La curva del producto sintético **80** (Figura 55) es igual a la del producto natural (Figura 54), indicando que la configuración de los centros quirales es la misma, mientras que la del compuesto **80'** (Figura 56) presenta valores diferentes a la del producto natural.

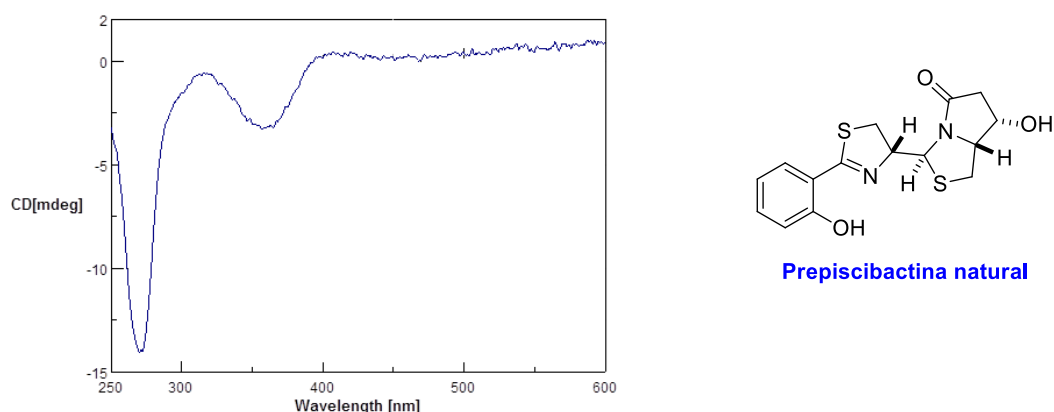


Figura 54. Espectro de CD ($\Delta\epsilon/\text{cm}^2\text{mol}$ vs λ (nm)) de prepiscibactina natural en CH_3OH .

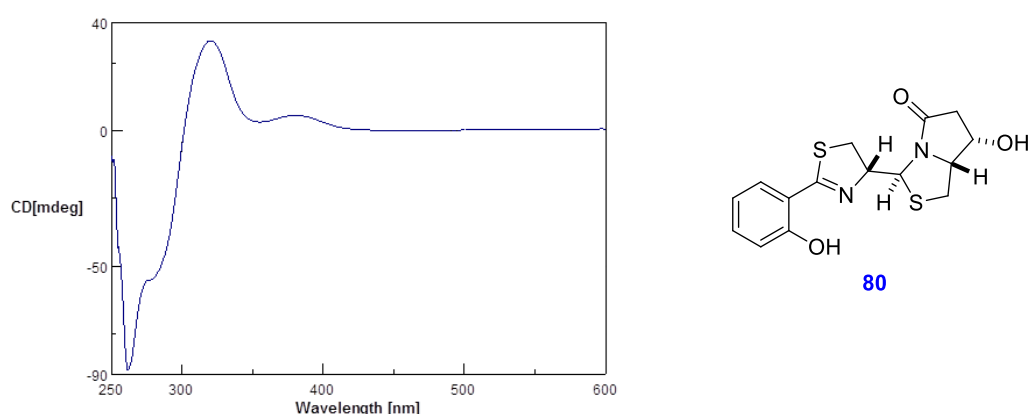


Figura 55. Espectro de CD ($\Delta\epsilon/\text{cm}^2\text{mol}$ vs λ (nm)) de prepiscibactina sintética (**80**) en CH_3OH .

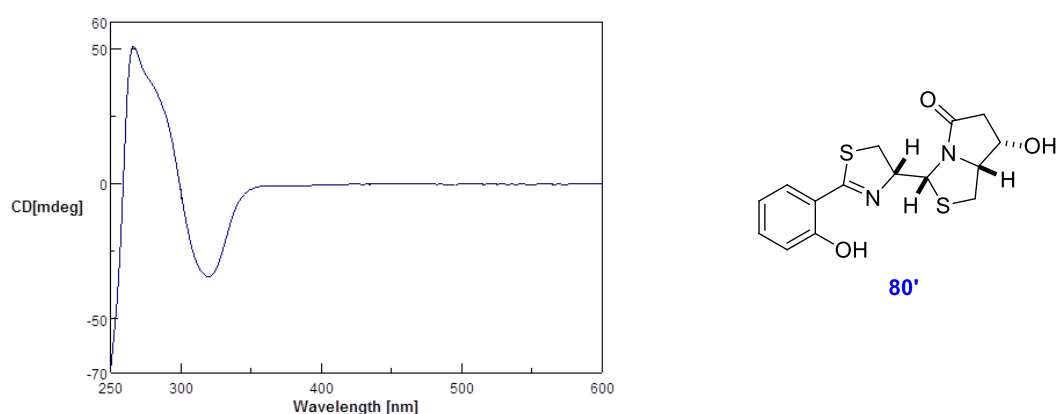


Figura 56. Espectro de CD ($\Delta\epsilon/\text{cm}^2\text{mol}$ vs λ (nm)) de 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**) en CH_3OH .

Así, se observa que el compuesto **80**, que presentó un efecto Cotton negativo a 260 nm y otro positivo a 325 nm, se corresponde con el derivado de configuración absoluta (9*R*, 10*S*, 12*R*, 13*S*) y el epímero **80'**, con efecto Cotton positivo y negativo a las mismas longitudes de onda, con el derivado de configuración absoluta (9*R*, 10*R*, 12*R*, 13*S*). En la Tabla 10 se recogen los valores de la rotación óptica y los datos de dicroísmo circular obtenidos para los dos productos sintéticos.

Tabla 10. Comparación de los valores de la rotación óptica específica y los datos de CD obtenidos para prepiscibactina (**80**) y 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**) en CH₃OH.

prepiscibactina (80)		10- <i>epi</i> -prepiscibactina (80')	
[α] _D	CD(mdeg)	[α] _D	CD(mdeg)
c = 0.12, CH ₃ OH	10 ⁻³ M, CH ₃ OH	c = 0.12, CH ₃ OH	10 ⁻³ M, CH ₃ OH
	-89 (260 nm)		+50 (260 nm)
-35.3	+35 (325 nm)	-25.3	-37 (325 nm)

Estos resultados coinciden con los encontrados en sus espectros 2D-RMN NOESY, ya que la estereoquímica relativa de 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**) se confirmó al mostrar señales intensas de NOE entre los protones H-10 y H-9 y entre H-10 y H-12, indicando una disposición *sin* de los mismos (Figura 57).

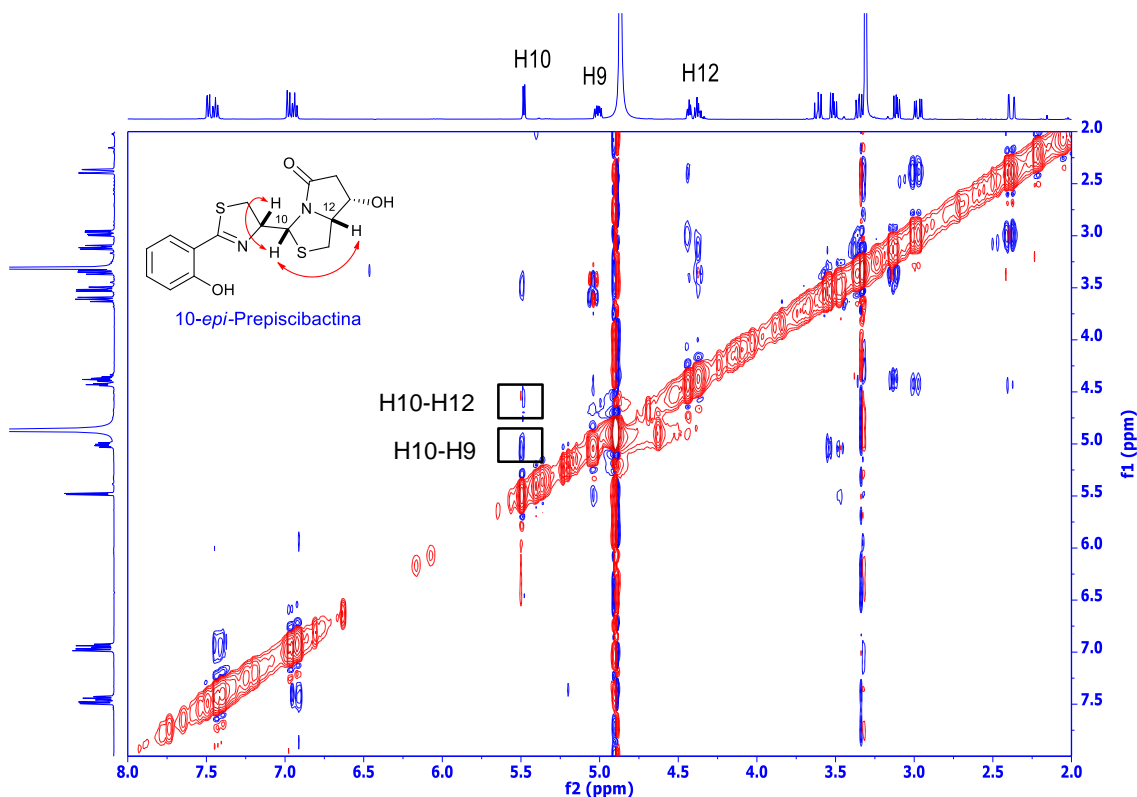


Figura 57. Espectro ¹H-¹H NOESY de 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**) en CD₃OD a 500 MHz.

Por otro lado, la débil señal NOE entre el par de protones H-10 y H-9 y la ausencia de interacción NOE entre H-10 y H-12 en el espectro de prepiscibactina (**80**), concuerda con la disposición *anti* de los mismos (Figura 58).

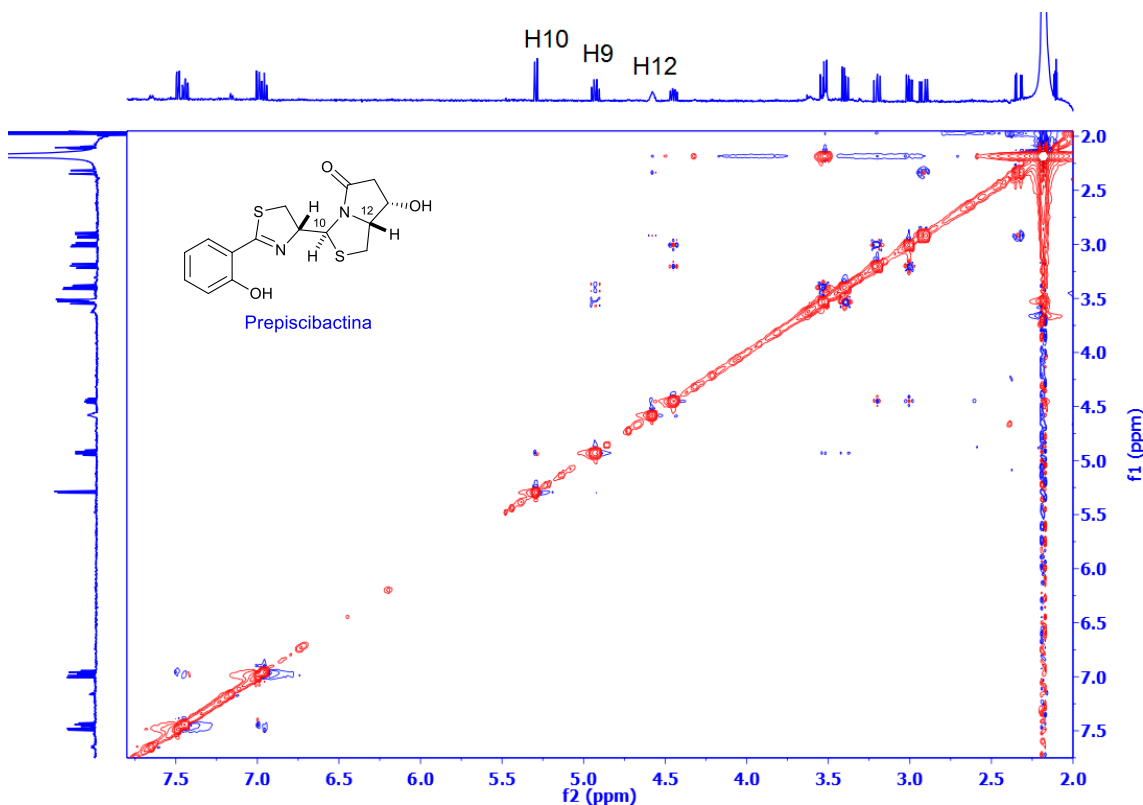


Figura 58. Espectro ^1H - ^1H NOESY de prepiscibactina (**80**) en CD_3CN a 500 MHz.

3.5. Análisis configuracional de los compuestos **182a**, **183a** y **183b**

La estereoquímica relativa de los compuestos **182a**, **183a** y **183b** fue determinada mediante el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento, también conocido como el método de Murata.⁴³ Los fundamentos de esta metodología así como sus limitaciones, se verán con más profundidad en el Capítulo IV.

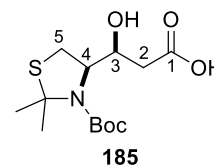
3.5.1. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto **182a**

La estereoquímica del hidroxilo secundario de **182a** se determinó aplicando el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento sobre el ácido **185**.

En la Tabla 11 se recogen los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y de ^{13}C del compuesto **185** en CD_3OD .

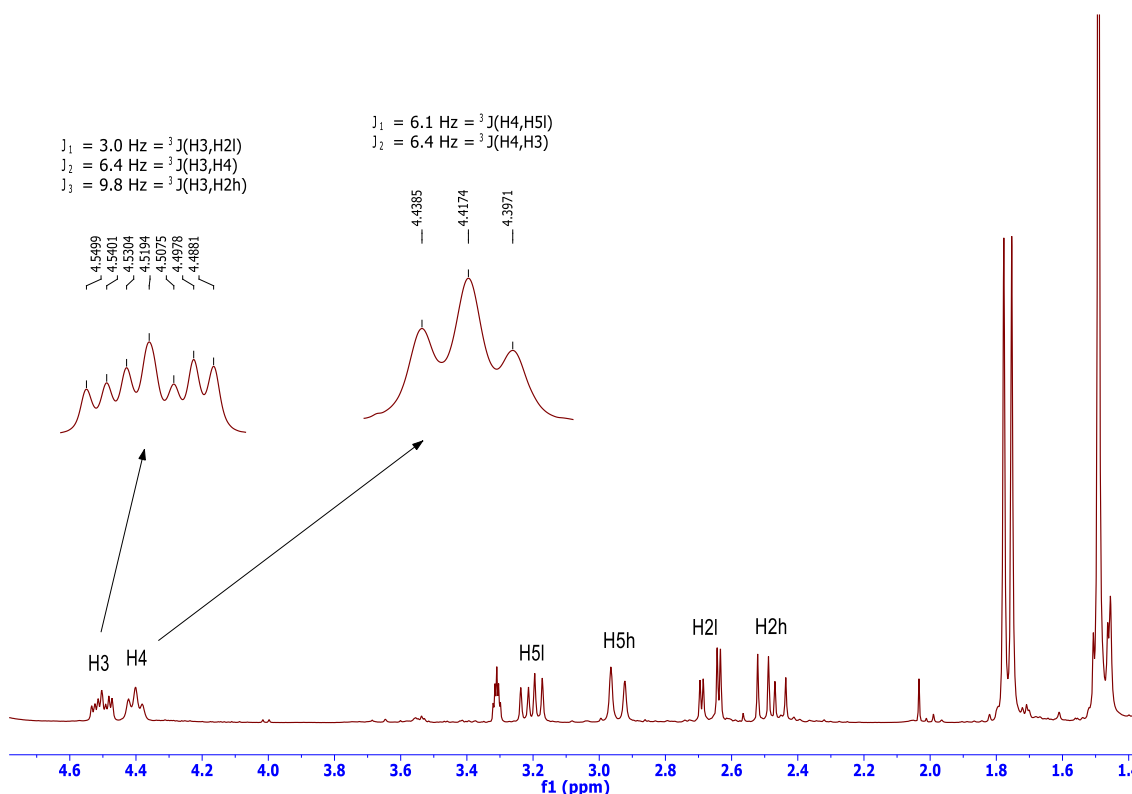
Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (300 MHz) y ^{13}C (75 MHz) del compuesto **185** en CD_3OD .

Carbono	δ_{C}	δ_{H} , mult. (J en Hz)
1	175.8	—
2	39.2	h: 2.49 dd (15.6, 6.9) l: 2.68 dd (15.6, 3.0)
3	69.6	4.52 ddd (9.3, 5.9, 3.0)
4	68.6	4.42 dd (6.9, 5.9)
5	28.9	h: 2.96 d (12.6) l: 3.22 dd (12.6, 6.9)
6	72.2	—
Me	28.2	1.79 s, 177 s
Boc	155.0, 82.0, 28.7	1.51 s



Hl protón que aparece a más ppm. Hh protón que aparece a menos ppm.

La constante de acoplamiento homonuclear $^3J(\text{H3}, \text{H4})$ se pudo obtener fácilmente del espectro de RMN de ^1H , donde H-3 resuena como ddd y H-4 como dd, tal como se puede apreciar en la Figura 59.

**Figura 59.** Espectro de RMN ^1H de **185** (300 MHz, CD_3OD), y análisis de las señales de los protones H-3 y H-4.

Por otro lado, las constantes de acoplamiento heteronucleares a dos y tres enlaces de distancia, $^{2,3}J(\text{C}, \text{H})$, se obtuvieron de los experimentos bidimensionales HSQC-

HECADE y J -HMBC. En la Figura 60 se muestra el espectro HSQC-HECADE y los acoplamientos que se obtienen por desdoblamiento en F1 (escala vertical) de los picos de cruce.

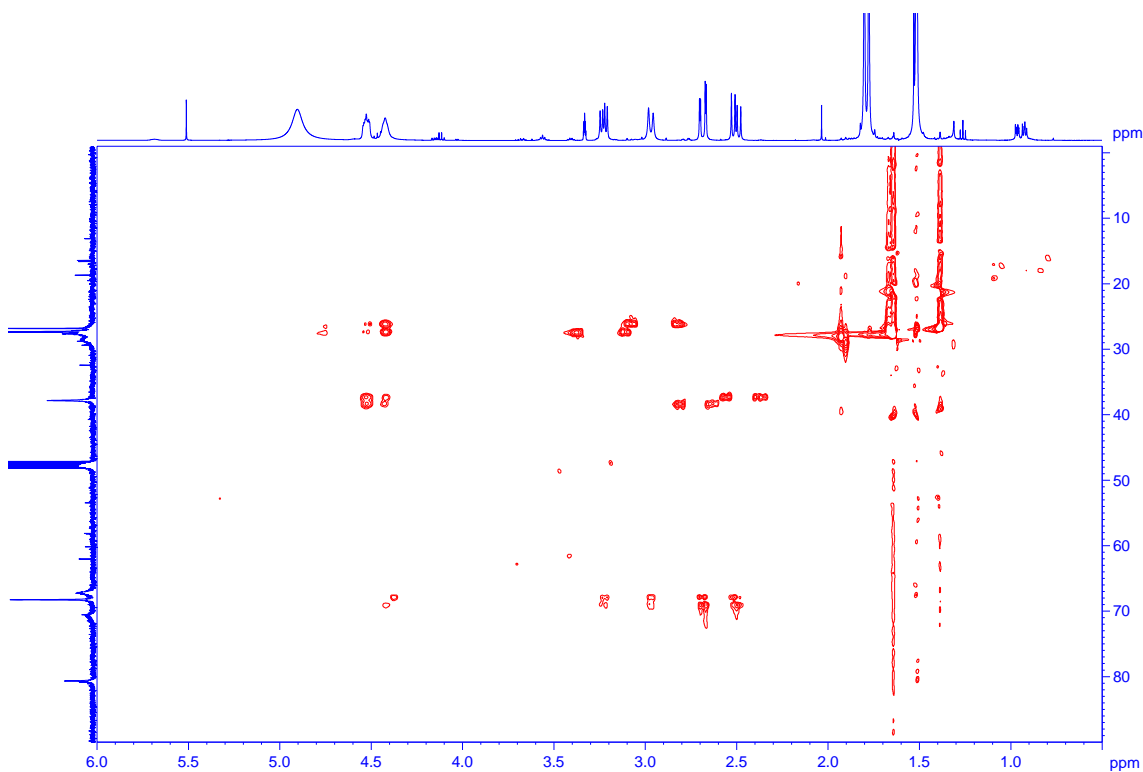
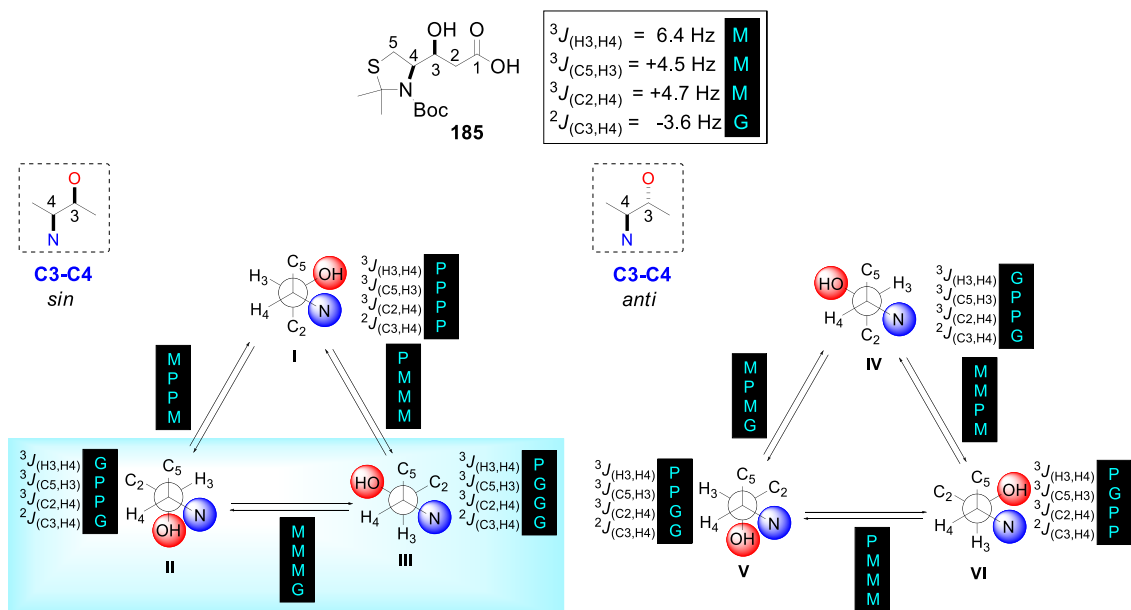


Figura 60. Espectro HSQC-HECADE del compuesto **185** (500 MHz, CD_3OD).

En el Esquema 77 se recogen los valores de las constantes de acoplamiento obtenidas en torno al enlace C3—C4 de **185**, así como el valor que se predice para cada conformero de las configuraciones *sin* y *anti*. El valor mediano (6.4 Hz) de la constante de acoplamiento homonuclear $^3J(\text{H3},\text{H4})$ sugiere la presencia de un equilibrio conformacional. Este valor descarta aquellos equilibrios entre conformeros en los que H-3 se encuentra en disposición *sinclinal* a H-4, es decir descarta los equilibrios entre los rotámeros **I** y **III** y entre los rotámeros **V** y **VI**, ya que en este caso la constante debería ser pequeña. En relación a las constantes heteronucleares, el valor mediano (+4.5 Hz) de $^3J(\text{C5},\text{H3})$ indica que existe un equilibrio entre los conformeros con disposiciones *sinclinal* y *antiperiplanar* de C-5 con respecto a H-3, es decir las dos posibilidades de equilibrio son entre los rotámeros **II** y **III** o entre los rotámeros **IV** y **VI**. Finalmente, los valores mediano (+4.7 Hz) de $^3J(\text{C2},\text{H4})$ y grande (-3.6 Hz) de la constante heteronuclear a dos enlaces $^2J(\text{C3},\text{H4})$, tan sólo concuerdan con la presencia de un equilibrio entre los conformeros **II** y **III**, es decir el enlace C3—C4 de **185** presenta una configuración relativa *sin*. Por tanto, la configuración absoluta del átomo de carbono que contiene el hidroxilo es *S*.



P = valor pequeño de la constante de acoplamiento. M = valor mediano de la constante de acoplamiento. G = valor grande de la constante de acoplamiento.

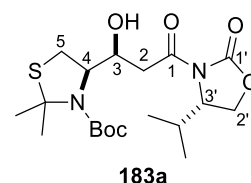
Esquema 77. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento en torno al enlace C3—C4 del compuesto **185**.

3.5.2. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto **183a**

Los datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **183a** se representan en la Tabla 12.

Tabla 12. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) del compuesto **183a** en CD_3OD .

Carbono	δ_c	δ_H , mult. (J en Hz)
1	171.7	—
2	40.5	h: 2.86 d (12.3) l: 3.22 m
3	69.5	4.58 sa ($W_{1/2} = 19$)
4	67.2	4.42 dd (12.5, 6.5)
5	29.8	3.22 m
6	72.2	—
1'	154.1	—
2'	63.5	h: 4.23 dd (7.9, 3.4) l: 4.30 dd (7.9, 7.6)
3'	58.6	4.47 ddd (7.6, 4.4, 3.4)
iPr	18.0	2.40 dhept, 0.91 d, 0.93 d
Me	14.7	1.82 s, 1.80 s
Boc	155.0, 81.2, 29.3	1.50 s



HI protón que aparece a más ppm. Hh protón que aparece a menos ppm.

La constante $^3J(\text{H3},\text{H4})$ se obtuvo del espectro de RMN de ^1H (Figura 61), mientras que las $^{2,3}J(\text{C},\text{H})$ se midieron mediante el experimento HSQC-HECADE (Figura 62).

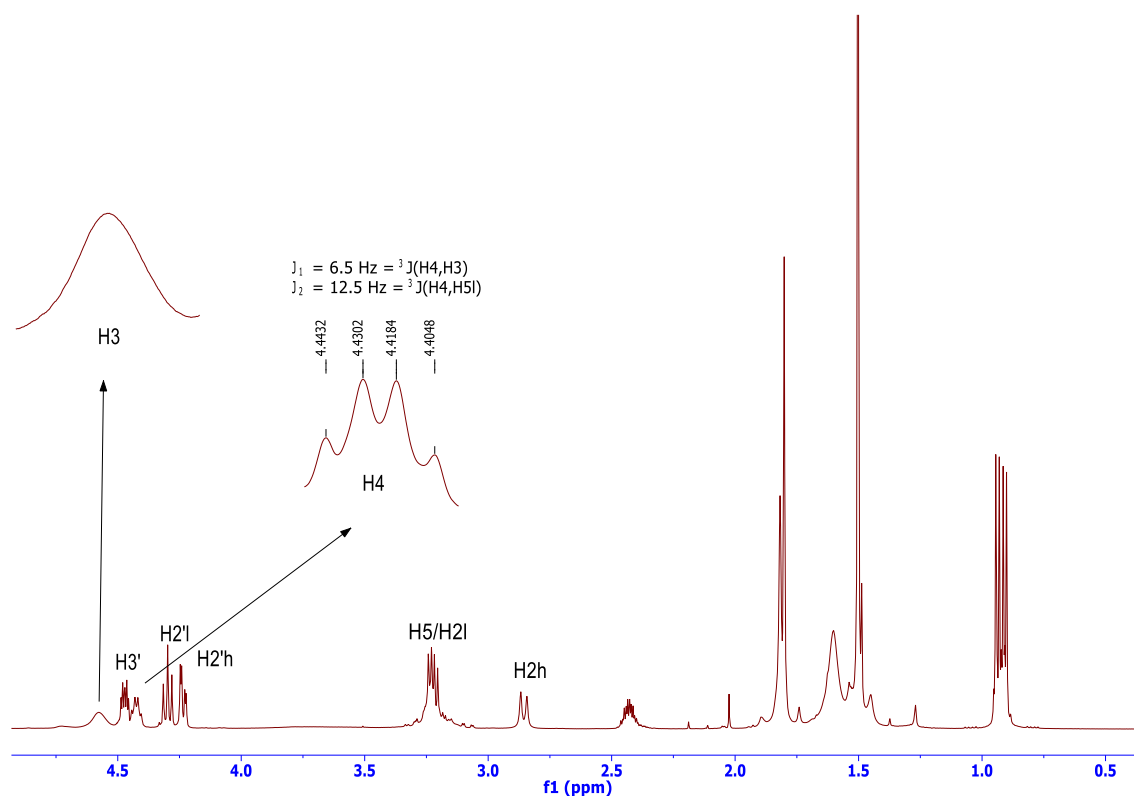


Figura 61. Espectro de RMN ^1H de **183a** (500 MHz, CDCl_3), y análisis de la señal del protón H-4.

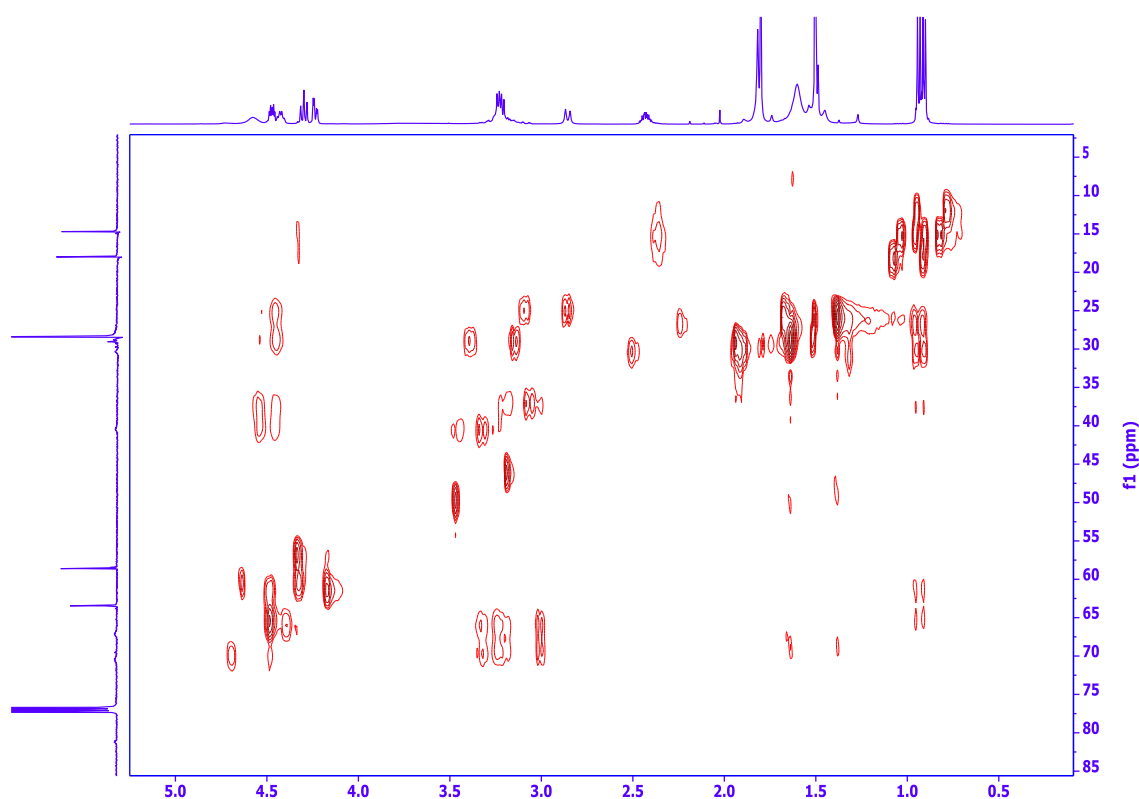
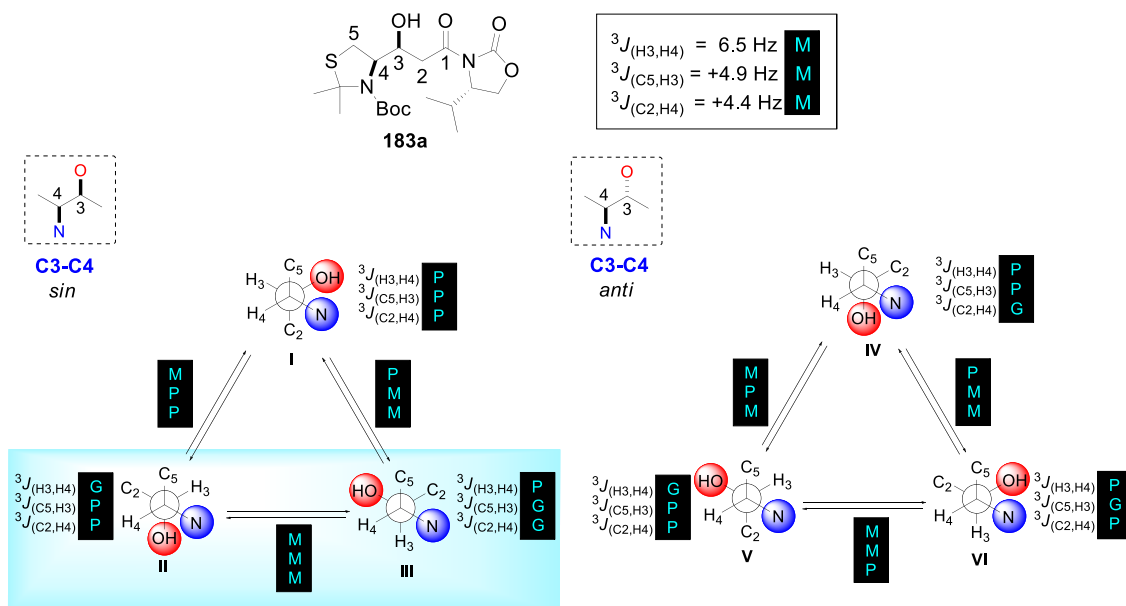


Figura 62. Espectro HSQC-HECADE del compuesto **183a** (500 MHz, CD_3OD).

En el Esquema 78, se reflejan las constantes de acoplamiento encontradas en torno al enlace C3—C4 de **183a**, así como los valores esperados para cada conformero de las configuraciones *sin* y *anti*. Al igual que en el caso anterior, desde un análisis cualitativo se aprecia la existencia de un equilibrio conformacional, ya que se obtienen valores medianos para algunas constantes de acoplamiento. El valor mediano (6.1 Hz) observado para la $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4)$ indica que existe un equilibrio entre los conformeros en el que los protones H-3 y H-4 están en un caso en disposición *antiperiplanar*, y en el otro, en disposición *sinclinal*. Esto descarta la posibilidad de un equilibrio entre los rotámeros I y III y entre los rotámeros IV y VI, ya que en estos casos la disposición de los protones H-3 y H-4 es *sinclinal*. Si examinamos los acoplamientos heteronucleares, el valor mediano (+4.9 Hz) de la $^3J(\text{C}_5, \text{H}_3)$ indica que existe un equilibrio entre los conformeros con disposiciones *sinclinal* y *antiperiplanar* entre C-5 y H-3, y el valor mediano (+4.4 Hz) de la $^3J(\text{C}_2, \text{H}_4)$ indica que existe un equilibrio entre los conformeros con disposiciones *sinclinal* y *antiperiplanar* entre C-2 y H-4. Este conjunto de valores tan sólo concuerdan con la presencia de un equilibrio entre los conformeros II y III, siendo por tanto la configuración relativa *sin* la que está presente en torno al enlace C3—C4 de **183a**.



P = valor pequeño de la constante de acoplamiento. M = valor mediano de la constante de acoplamiento. G = valor grande de la constante de acoplamiento.

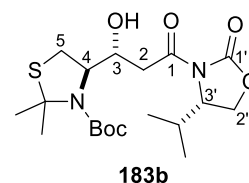
Esquema 78. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento en torno al enlace C3—C4 de **183a**.

3.5.3. Determinación de la estereoquímica relativa del compuesto **183b**

Los datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **183b** se representan en la Tabla 13.

Tabla 13. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) del compuesto **183b** en CD_3OD .

Carbono	δ_c	δ_H , mult. (J en Hz)
1	171.5	—
2	40.8	h: 2.85 d (12.3) l: 3.21 d (12.3, 6.4)
3	70.7	4.55 sa ($W_{1/2} = 15$)
4	68.5	4.41 ddd (10.3, 7.1, 3.3)
5	29.7	h: 3.14 m l: 3.26 dd (16.0, 3.3)
6	72.2	—
1'	154.1	—
2'	63.5	h: 4.22 dd (8.1, 3.4) l: 4.28 dd (8.1, 8.1)
3'	58.6	4.50 ddd (8.1, 7.2, 3.4)
ⁱ Pr	18.0	2.40 dhept, 0.91 d, 0.93 d
Me	14.8	1.81 s, 1.79 s
Boc	155.0, 81.2, 29.3	1.49 s



Hl protón que aparece a más ppm. Hh protón que aparece a menos ppm.

La constante homonuclear $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4)$ se extrajo del espectro de RMN ^1H en donde H-3 resuena como un singlete ancho y H-4 como un ddd (Figura 63).

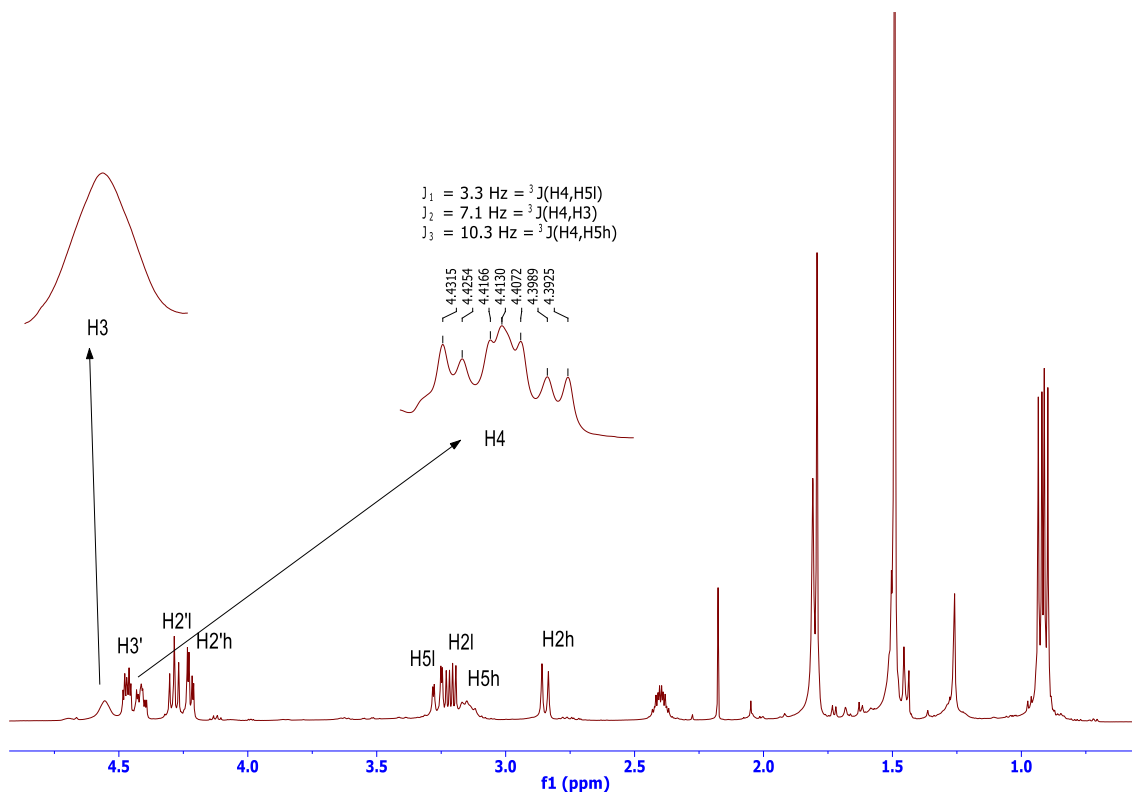


Figura 63. Espectro de RMN ^1H de **183b** (500 MHz, CDCl_3) y análisis de la señal del protón H-4.

Por otro lado, las constantes heteronucleares $^{2,3}J(\text{C},\text{H})$ se extrajeron del experimento HSQC-HECADE (Figura 64).

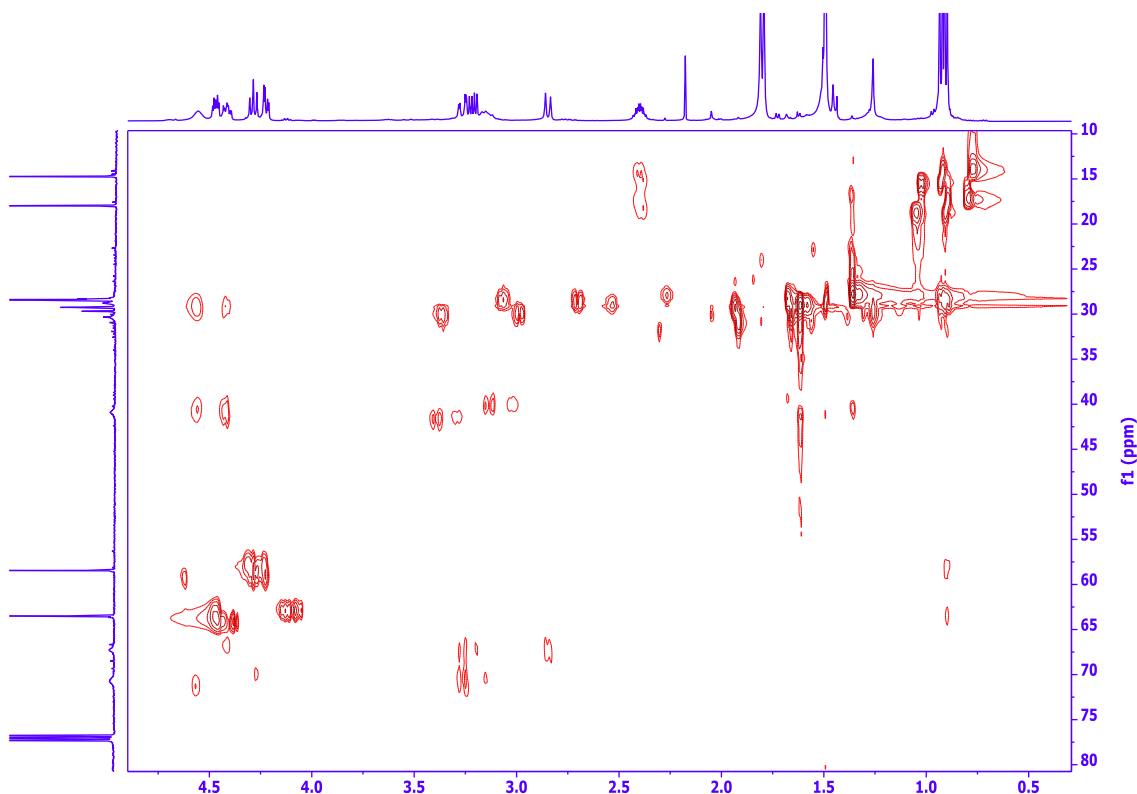
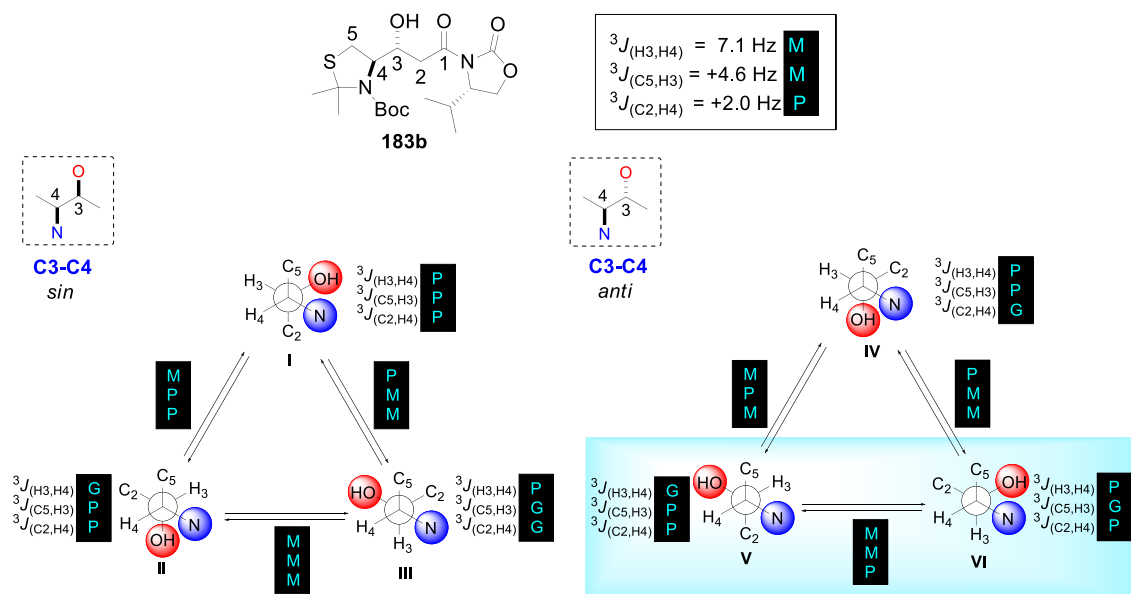


Figura 64. Espectro HSQC-HECADE del compuesto **183b** (500 MHz, CDCl_3).

Las constantes de acoplamiento encontradas en torno al enlace C3—C4 de **183b** se muestran en el Esquema 79. Al igual que su epímero en la posición C-3 (**183a**), el compuesto **183b** muestra un valor entre mediano y grande (7.1 Hz) para la constante de acoplamiento homonuclear entre H-3 y H-4, lo que es compatible con un equilibrio de rotámeros. Los cuatro equilibrios posibles son: entre los confórmeros I y II, entre II y III, entre IV y V o entre V y VI. Por su parte, el valor de +4.6 Hz obtenido para la constante heteronuclear $^3J(\text{C5},\text{H3})$ descarta los equilibrios conformacionales entre I y II y entre IV y V, debido a que en ambos equilibrios la constante tendría que ser pequeña y experimentalmente es mediana. Finalmente, el valor pequeño (+2.0 Hz) de la constante $^3J(\text{C2},\text{H4})$ descarta la posibilidad de un equilibrio entre los confórmeros II y III, ya que en este caso el valor de la constante de acoplamiento tendría que ser mediano. En resumen, esta situación se corresponde claramente con la presencia de un equilibrio entre los confórmeros V y VI, por tanto el enlace C3—C4 de **183b** presenta una configuración relativa *anti*.

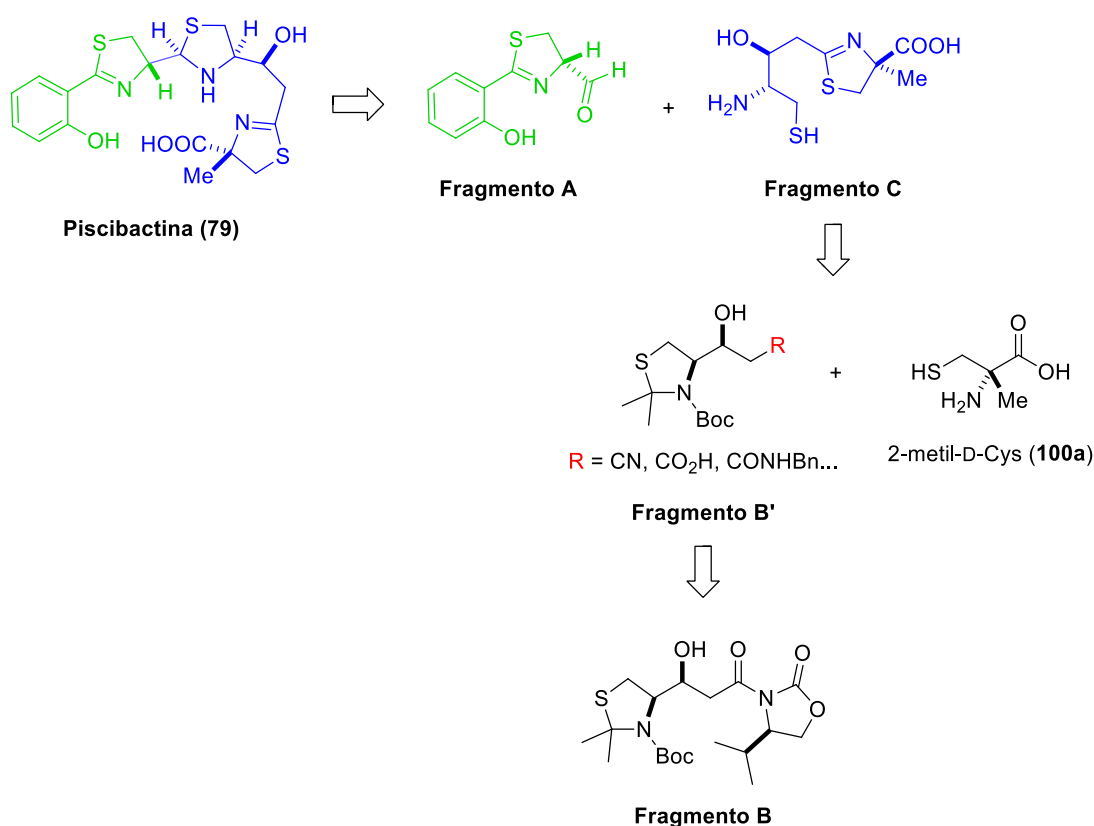


P = valor pequeño de la constante de acoplamiento. **M** = valor mediano de la constante de acoplamiento. **G** = valor grande de la constante de acoplamiento.

Esquema 79. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento en torno al enlace C3—C4 de **183b**.

4. APROXIMACIÓN SINTÉTICA A PISCIBACTINA

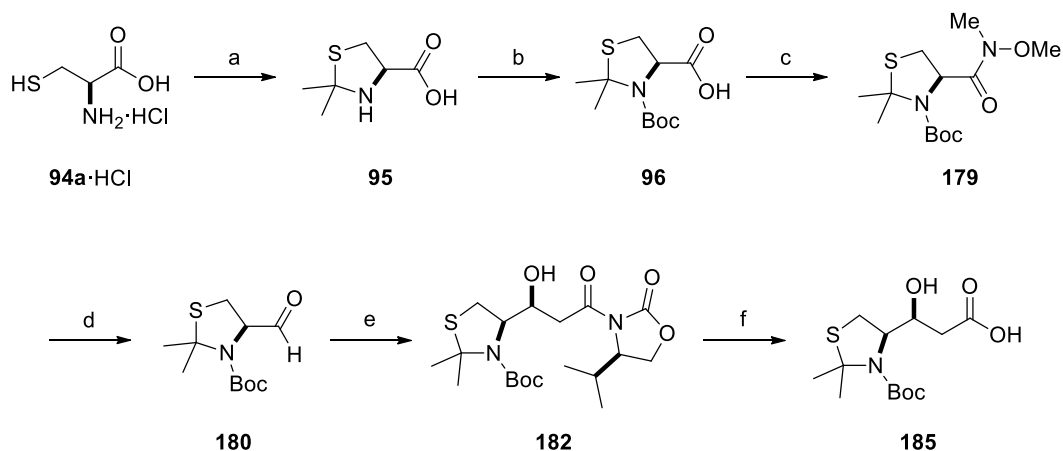
En el análisis retrosintético diseñado para piscibactina se planteó una desconexión a través del anillo de tiazolidina, debido a la elevada inestabilidad del mismo, originando los dos fragmentos A y C (Esquema 80). El fragmento A es común a prepiscibactina y el C se podría obtener a partir del fragmento B' y la 2-metil-D-cisteína (**100a**). El fragmento B' se puede preparar fácilmente a partir del fragmento B, obtenido en la síntesis de prepiscibactina, siendo R cualquier grupo que permita realizar una condensación con la 2-metil-D-cisteína para formar el anillo de tiazolina presente en el fragmento C. Una vez obtenido el fragmento C, su condensación con el A se realizaría utilizando las mismas condiciones que en la síntesis de prepiscibactina.



Esquema 80. Análisis retrosintético propuesto para la síntesis de piscibactina.

Tal como se ha descrito en los antecedentes de este capítulo, el anillo tiazolínico del fragmento C se puede obtener mediante la condensación de aminotioles o aminoalcoholes vecinales con el grupo adecuado, que pueden ser nitrilos, iminoéteres, triflatos de iminio, ácidos carboxílicos o ésteres, seguido de una reacción de ciclación/deshidratación. Para nuestro propósito, la preparación del fragmento C se planteó mediante la condensación del fragmento B' y la 2-metil-D-cisteína (**100a**).

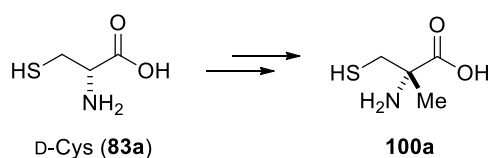
En los diversos métodos empleados para obtener el fragmento B', se partió del ácido **185** que ya había sido obtenido durante la síntesis de prepiscibactina, y cuya estrategia sintética de preparación se resume en el Esquema 81.



Esquema 81. *Reactivos y condiciones:* (a) 2,2-dimetoxipropano, acetona (88%); (b) Boc_2O , Py (65%); (c) $\text{MeHNOMe}\cdot\text{HCl}$, $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$, DIPEA, CH_2Cl_2 (71%); (d) LiAlH_4 , Et_2O , 0°C (98%); (e) (*R*)-**115**, Sml_2 , THF, -78°C (95%); (f) LiOH , THF/ H_2O (4:1), 0°C (96%).

De esta forma, el intermedio **185** se obtiene en un 36% de rendimiento global tras 6 etapas sintéticas a partir del hidrocloreto de la L-cisteína (**94a**·HCl).

De forma paralela, miembros de nuestro grupo de investigación prepararon la 2-metil-D-cisteína (**100a**) a partir de la D-cisteína (**83a**) según la metodología desarrollada por Mulqueen y col (Esquema 82).¹⁷³



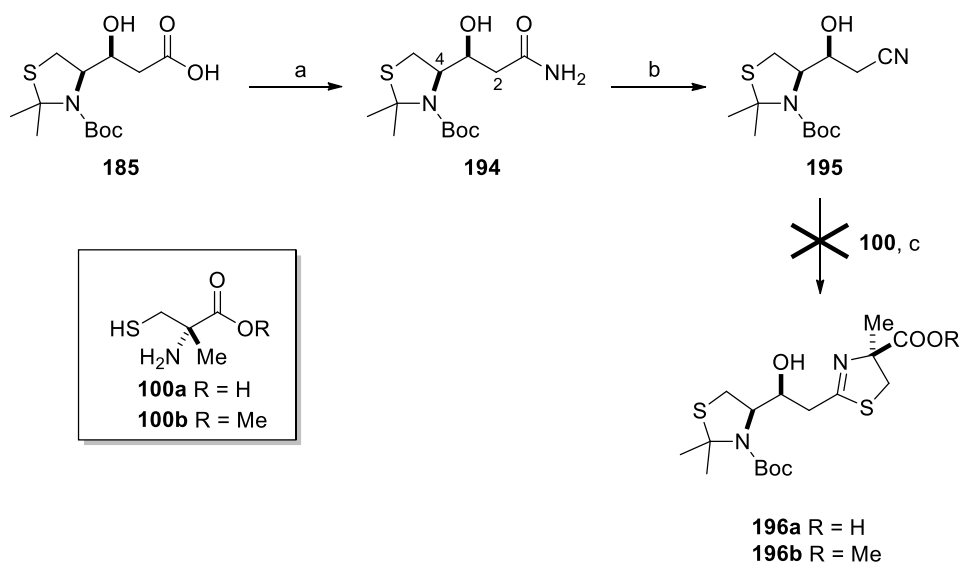
Esquema 82.

A continuación se detallan los distintos métodos de obtención del fragmento C llevados a cabo.

4.1. Método basado en la condensación de β -aminotioles con nitrilos

Recordemos que este método consiste en la formación de tiazolinas a partir de la condensación de un nitrilo con un aminotiol vecinal. En este caso, el β -aminotiol es la 2-metil-D-cisteína (**100**) y el nitrilo se correspondería con el compuesto **195** (Esquema 83).

¹⁷³ Mulqueen, G. C.; Pattenden, G.; Whiting D. A. *Tetrahedron* **1993**, 49, 5359-5364.



Esquema 83. *Reactivos y condiciones:* (a) $i\text{BuOCOCl}$, NMM, THF, $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (85%); (b) Et_3N , TFAA, THF (86%); (c) EtOH , Et_3N , 120°C , tubo sellado.

El ácido carboxílico **185** fue transformado en el nitrilo **195** siguiendo un procedimiento similar al empleado por Ye y col. en la síntesis total de bisebromoamida.¹⁷⁴ Para ello se trató **185** con NH_3 acuoso empleando cloroformiato de *iso*-butilo y *N*-metilmorfolina en THF, obteniéndose la amida primaria **194** con un 85% de rendimiento. La deshidratación de esta amida mediante su tratamiento con anhídrido trifluoroacético y trietilamina en THF, condujo al nitrilo buscado **195** con un 86% de rendimiento.

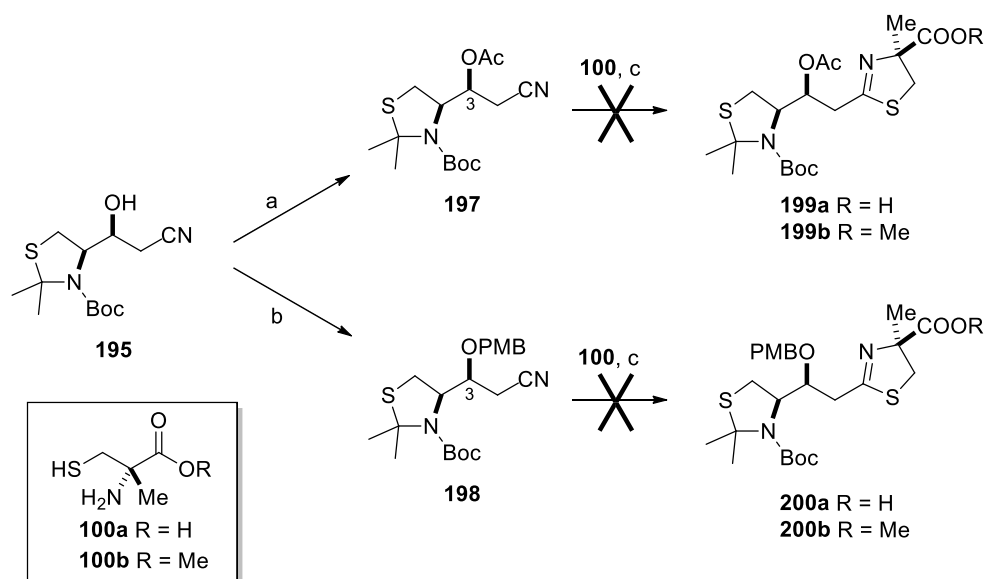
En el espectro de RMN de ^1H de **194** se observó un solapamiento de las señales de los protones H-3 y H-4 en torno a 4.4 ppm y de las señales de los protones diastereotópicos H-2a y H-2b en torno a 2.5 ppm, a diferencia de las correspondientes señales en el ácido **185** que aparecen perfectamente diferenciadas. La formación del grupo amida de **194** se confirmó por la señal del carbonilo (C-1) a 177.3 ppm que aparece en su espectro de RMN de ^{13}C y por espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución al mostrar el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 305.1531 (masa calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 305.1529). Por otro lado, el espectro de RMN de ^{13}C de **195** corroboró la deshidratación de la amida y la consecuente formación del nitrilo, al observarse el desplazamiento del carbono del grupo nitrilo (C-1) a 117.5 ppm.

La preparación de las tiazolinas **196a-b** mediante la condensación del nitrilo **195** con el β -amino tiol **100** en presencia de trietilamina en etanol y a 120°C en un tubo sellado se probó tanto con 2-metil-D-cisteína (**100a**) como con su éster metílico (**100b**), dando en ambos casos resultados infructuosos, tal como se pudo comprobar por

¹⁷⁴ Gao, X.; Liu, Y.; Kwong, S.; Xu, Z.; Ye, T. *Org. Lett.* **2010**, *13*, 3018-3021.

espectroscopia de RMN utilizando tanto técnicas monodimensionales ^1H , ^{13}C y DEPT-135, como experimentos 2D-RMN: ^1H - ^1H COSY, HSQC y HMBC.

Se postuló que la presencia del hidroxilo libre en **195** podría ser la causa que impide la formación de las tiazolinas **196**, por lo que se propuso llevar a cabo el mismo procedimiento pero con este grupo protegido. Para ello se trató **195** con diversos agentes protectores como TMSCl, TBDMSCl, TBDPSCI, 2,2,2-tricloroacetimidato de alilo o bromuro de bencilo, teniendo tan sólo éxito la acetilación y la protección con el grupo *p*-metoxibencilo (Esquema 84).



Esquema 84. *Reactivos y condiciones:* (a) Ac_2O , Py, DMAP (cuantitativo); (b) $\text{Cl}_3\text{C}(\text{CN})\text{OPMB}$, $\text{F}_3\text{B}\cdot\text{Et}_2\text{O}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexano}$ 1:2 (87%); (c) EtOH , Et_3N , 120°C , tubo sellado.

La acetilación de **195** empleando piridina y DMAP en anhídrido acético, condujo a **197** con rendimiento cuantitativo. Su espectro de RMN de ^1H mostró el desplazamiento del protón H-3 a más frecuencia (5.51 ppm) y la aparición de un singlete a 2.12 ppm correspondiente al metilo del grupo acetato, mientras que su espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia del grupo acetato al observarse el carbonilo a 169.6 ppm y el metilo del grupo acetato a 21.0 ppm. La espectrometría de masas de (+)-ESI de alta resolución corroboró la obtención de **197** al mostrar el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 329.1540 (masa calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 329.1529).

La introducción del grupo PMB en el hidroxilo de **195** se llevó a cabo mediante su tratamiento con 2,2,2-tricloroacetimidato de *p*-metoxibencilo usando como catalizador trifluoruro de boro/dietil eterato ($\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$) en una mezcla 1:2 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexano}$.¹⁷⁵ Este procedimiento condujo a **198** con un rendimiento del 87%, cuyo espectro de RMN de ^1H

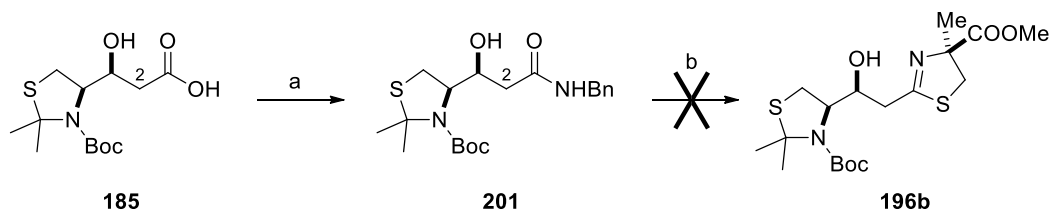
¹⁷⁵ Occhiato, E. G.; Scarpi, D.; Guarna, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 524-531.

mostró el desplazamiento del protón H-3 a menos frecuencia y la aparición de dos multipletes a 7.25 y 6.82 ppm y un singulete a 3.71 ppm, correspondientes a las señales del grupo *p*-metoxibencilo. La espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución corroboró la obtención de **198** al mostrar el ión $[M+H]^+$ a m/z 407.1998 (masa calculada para $C_{21}H_{31}N_2O_4S$: 407.1999).

El tratamiento de los β -hidroxinitrilos protegidos **197** y **198** tanto con la 2-metil-D-cisteína (**100a**) como con su éster metílico (**100b**) empleando la misma metodología que en el caso descrito anteriormente, no condujo a ninguna de las tiazolinas esperadas (**199a-b** y **200a-b**), según se pudo comprobar por espectroscopia de RMN.

4.2. Método basado en la condensación de β -aminotioles con triflatos de iminio: método de Charette

Este método consiste en la formación de tiazolinas mediante la condensación de amidas primarias y β -aminoalcoholes usando anhídrido trifílico. En el Esquema 85 se representa la ruta llevada a cabo para intentar formar la tiazolina deseada.



Esquema 85. Reactivos y condiciones: (a) $iBuOCOCl$, NMM, $BnNH_2$, THF (78%); (b) **100b**, CH_2Cl_2 , Py, Tf_2O , $-40^\circ C$ a t.a.

Partiendo de nuevo del ácido **185**, la obtención de la correspondiente amida bencílica **201** se llevó a cabo mediante su tratamiento con bencilamina en presencia de cloroformiato de *iso*-butilo y *N*-metilmorfolina en THF,¹⁷⁶ obteniéndose el producto deseado con un 78% de rendimiento. Su espectro de RMN de 1H confirmó la obtención de la amida bencílica por la aparición de los multipletes a 7.30 y 4.45 ppm, correspondientes a los protones del anillo aromático y a los protones bencílicos, respectivamente. También se observó el solapamiento de las señales correspondientes a los protones diastereotópicos H-2a y H-2b en torno a 2.48 ppm.

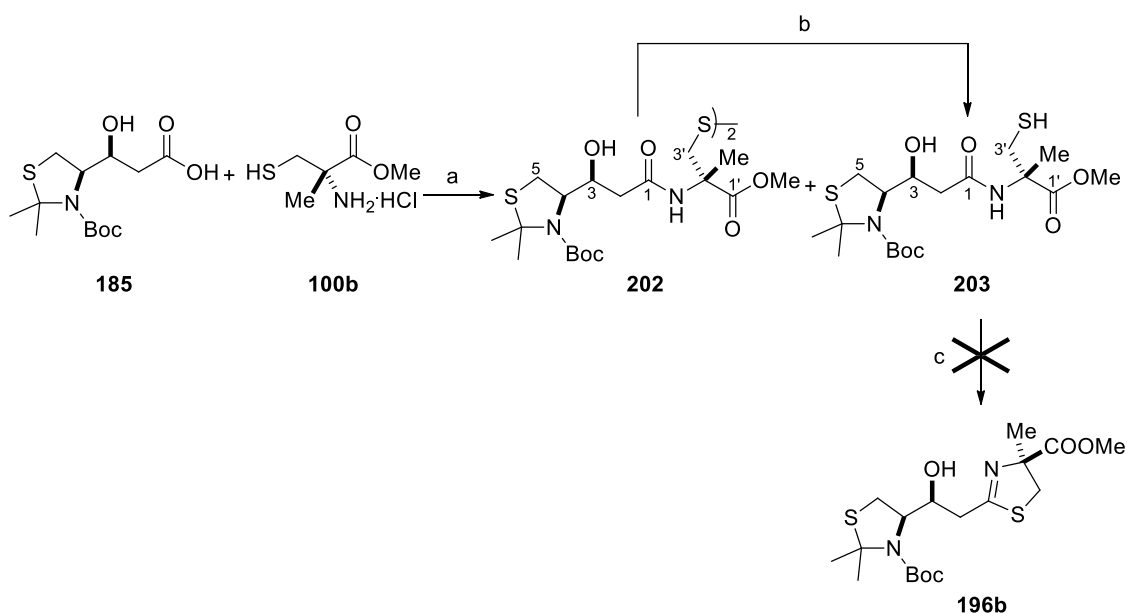
La condensación de la amida secundaria **201** con el éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (**100b**) empleando las condiciones descritas por Charette, es decir anhídrido trifílico y piridina en CH_2Cl_2 a baja temperatura ($-40^\circ C$),¹³⁹ no condujo al producto esperado.

¹⁷⁶ Linder, J.; Garner, T. P.; Williams, H. E. L.; Searle, M. S.; Moody, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1044-1051.

Estos intentos fallidos de formación de la tiazolina deseada mediante la condensación tanto del nitrilo **195** como de la amida bencílica **201** con la 2-metil-D-cisteína, nos llevaron a cambiar de método. La siguiente estrategia consistiría en la realización del acoplamiento entre el ácido **185** y la amina **100b** para formar la correspondiente amida, cuya posterior ciclación usando distintos métodos debería conducir a la tiazolina de interés

4.3. Método basado en la ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas

En el Esquema 86 se representa la ruta sintética planteada para la obtención de la tiazolina **196b**. Dado que el grupo hidroxilo presenta dificultades para ser protegido, el primer intento de formación del heterociclo se hizo sobre el intermedio desprotegido **203**.



Esquema 86. *Reactivos y condiciones:* (a) CDI, THF/DMF (1:1), 0 °C; (b) NaBH₄, THF/MeOH (72% para los dos pasos); (c) TFA/tolueno (1:9), Δ.

El acoplamiento entre el ácido **185** y el éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (**100b**) empleando el agente CDI en una mezcla 1:1 THF/DMF a 0 °C, condujo a la amida deseada como una mezcla del monómero **203** y del dímero **202** que se separaron por cromatografía en columna de gel de sílice. La ruptura del puente disulfuro de **202** se logró tratando dicho compuesto con exceso de borohidruro sódico (25 eq.) en una mezcla 1:1 MeOH/THF a 0 °C,¹⁷⁷ obteniéndose el monómero **203** con un rendimiento del 72% para los dos pasos.

¹⁷⁷ (a) Grainger, R. S.; Patel, B.; Kariuki, B. M.; Male, L.; Spencer, N. J. *Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 5843-5852. (b) Nicolaou, K. C.; Totokotsopoulos, S.; Giguère, D.; Sun, Y. P.; Sarlah, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 8150-8153.

La obtención del dímero **202** se confirmó utilizando técnicas monodimensionales de RMN ^1H , ^{13}C y DEPT-135, junto con experimentos 2D-RMN: ^1H - ^1H COSY y HSQC y espectrometría de masas. El espectro de RMN de ^{13}C mostró la presencia de un carbono a 173.4 ppm, que confirmó la formación del enlace amida y la espectrometría de masas de (+)-ESI de alta resolución indicó la formación del dímero al mostrar el ión $[\text{M}+\text{Na}]$ a m/z 893.3171 (masa calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaS}_2$: 893.3139).

En el espectro de RMN de ^1H de **203** se observó la presencia de un triplete ($J = 9.1$ Hz) a 1.44 ppm correspondiente al protón del grupo SH, confirmando la existencia del monómero en vez del dímero. También se observó el desplazamiento químico y diferente multiplicidad de los protones diastereotópicos H-3'b y H-3'a, que resonaban en **202** como dobletes ($J = 14.0$ Hz) a 3.56 ppm y 3.40 ppm, resonando en **203** como dos dd ($J = 14.0, 9.1$ Hz) a 3.37 ppm y 3.12 ppm, respectivamente. La reducción del grupo disulfuro se corroboró por el desplazamiento a menor frecuencia (de 45.5 a 30.3 ppm) del carbono C-3' en su espectro de RMN de ^{13}C y por la presencia del ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 459.1597 (masa calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaS}_2$: 459.1582) en su espectro de (+)-HR-ESIMS.

Una vez obtenida la amida **203** los intentos de formación de la tiazolina **196b** se basaron en dos metodologías diferentes: o bien empleando ácido trifluoroacético en tolueno a reflujo, o mediante el uso de un catalizador de molibdeno en tolueno con eliminación azeotrópica de agua.

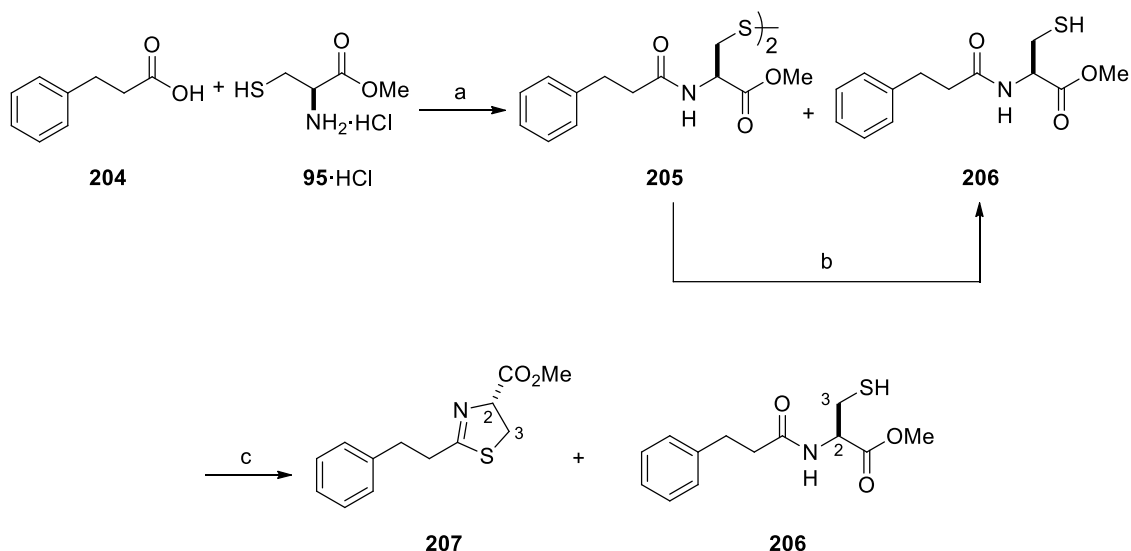
En relación con la primera estrategia, se siguió la metodología empleada por Mubarayashi y col. en la síntesis total de micacocidina y yersiniabactina.^{99,100a} En estos trabajos los autores logran la síntesis de tiazolinas a partir de un compuesto estructuralmente muy similar a **203**, empleando ácido trifluoroacético en tolueno a reflujo. Al emplear este procedimiento con nuestro sustrato, no se consiguió el resultado deseado. Teniendo en cuenta que la presencia de agua podría ser una posible causa de que no se formase la tiazolina, se probaron otras condiciones como el montaje Dean-Stark o la adición de moléculas Sieves al matraz de reacción para retirar el agua del medio, pero el resultado obtenido fue el mismo.

En el espectro de RMN de ^1H del crudo de reacción no se observaron las señales correspondientes al grupo *terc*-butoxicarbonilo ni las correspondientes al grupo acetónido. Por ello, creemos que debido a las condiciones ácidas usadas en este método, probablemente se desprotegen los grupos amino y tiol con posterior descomposición del producto, por lo que se decidió probar con otro método que no requiriese condiciones ácidas tan drásticas.

Se empleó entonces la metodología de Ishihara y col. mediante la cual las *N*-acilserinas, las *N*-aciltreoninas y las *N*-acilcisteínas forman anillos de oxazolininas y

tiazolinas con buenos rendimientos, siempre que la reacción se realice en presencia de sales de amonio de molibdeno en tolueno y usando un montaje Dean-Stark.^{153,178}

Con el fin de poner a punto esta metodología, antes de probarla con nuestro sustrato **203**, se ensayó con la amida **206** obtenida mediante el acoplamiento del ácido hidrocinámico (**204**) con el hidrocloreto de la L-cisteína (**95·HCl**), ambos reactivos comerciales (Esquema 87).



Esquema 87. *Reactivos y condiciones:* (a) CDI, THF/DMF, 0 °C; (b) NaBH_4 , THF/MeOH (cuantitativo para los dos pasos); (c) $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, tolueno, Δ .

El acoplamiento del ácido **204** con la amina **95** se realizó en las mismas condiciones que las descritas para la preparación de **203**, obteniéndose una mezcla de los compuestos **205** (dímero) y **206** (monómero). El posterior tratamiento de esta mezcla con borohidruro sódico en MeOH/THF proporcionó el monómero **206** con rendimiento cuantitativo para los dos pasos.

La ciclación seguida de la pérdida de agua de **205** empleando como catalizador molibdato amónico en tolueno con eliminación azeotrópica de agua y en baja concentración,^{153,178} condujo a una mezcla de la tiazolina **207** y la amida **206** sin reaccionar en relación 1:1, según indicó su espectro de RMN de ^1H (Figura 65). La presencia en este espectro de las señales a 5.07 ppm, 3.60 ppm y 3.51 ppm, correspondientes a los protones H-2, H-3a y H-3b respectivamente, confirmó la obtención de la tiazolina **207**.

¹⁷⁸ Sakakura, A.; Kondo, R.; Umemura, S.; Ishihara, K. *Tetrahedron* **2009**, 65, 2102-2109.

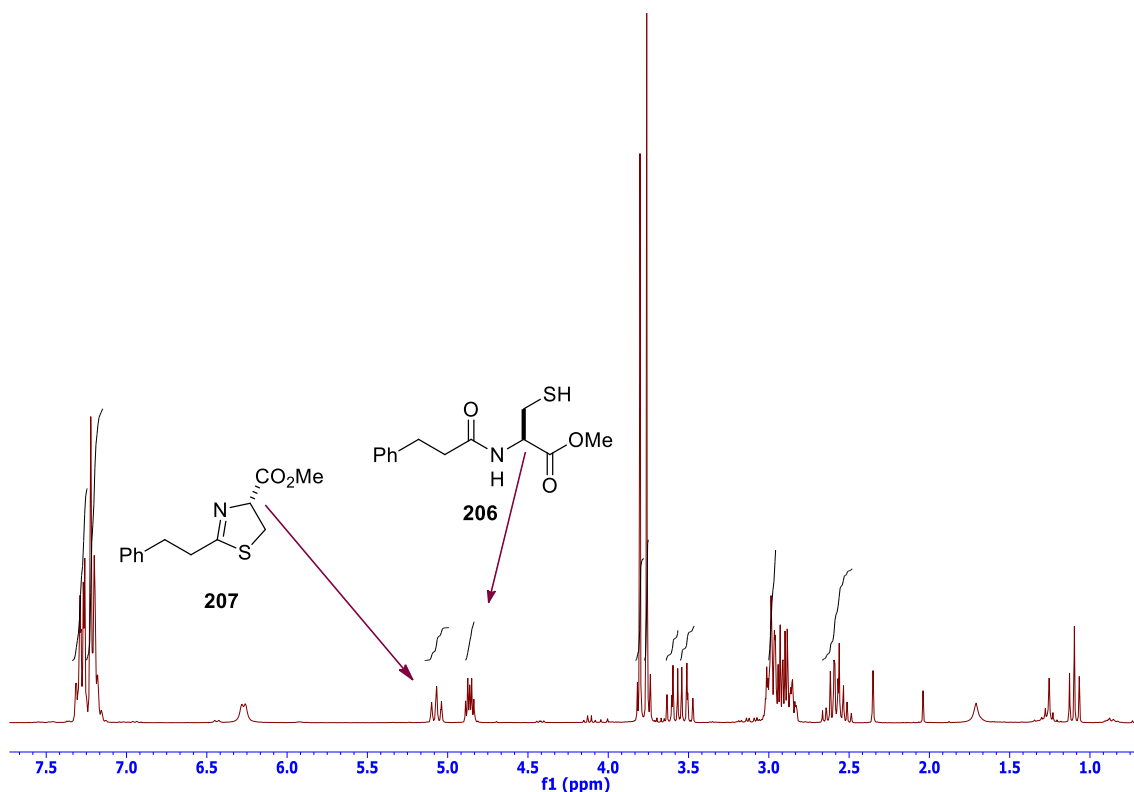
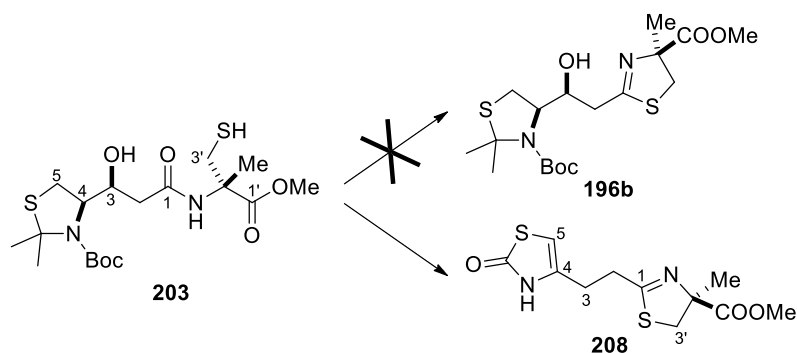


Figura 65. Espectro de RMN ^1H de **206** y **207** (300 MHz, CDCl_3).

Al aplicar esta metodología sobre nuestro sustrato, la amida **203**, lamentablemente no se observó la formación del compuesto deseado, sino que se obtuvo el compuesto **208**, en el se produce la deshidratación del alcohol seguida de la formación del heterociclo con migración del doble enlace a la posición C4—C5 (Esquema 88).



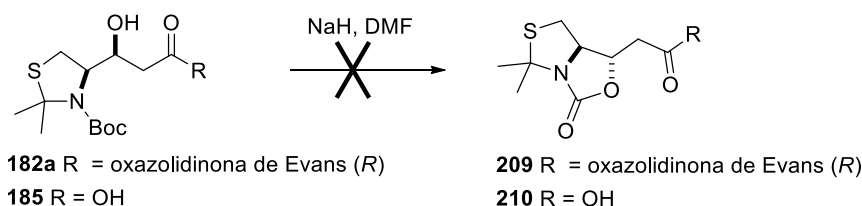
Esquema 88. Tratamiento de la amida **203** con $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ en tolueno a reflujo.

La estructura de este compuesto fue determinada mediante un estudio detallado de RMN junto con espectrometría de masas. El espectro de RMN de ^1H confirmó por una parte, la deshidratación del alcohol al mostrar la desaparición de la señal a 4.51 ppm en **203** y la aparición de la señal a 3.25 ppm en **208**, que fue asignada a los protones H-3, y por otra parte, la migración del doble enlace al mostrar la señal a 5.93 ppm, asignada

al protón H-5. El desplazamiento químico de los dobletes ($J = 11.8$ Hz) a 3.83 ppm y 3.33 ppm, correspondientes a los protones diastereotópicos H-3', confirmó la formación de la tiazolina, mientras que su espectro de RMN de ^{13}C corroboró la presencia del doble enlace entre las posiciones 4 y 5 al observarse las señales de dos carbonos a 156.2 y 118.0 ppm, correspondientes a los carbonos olefínicos C-4 y C-5, respectivamente. Su espectro bidimensional de correlación HMBC mostró picos de cruce entre la señal del carbono C-1 y la señal de los protones H-2, H-3 y H-3', confirmando la deshidratación del alcohol, por un lado y la formación de la tiazolina, por el otro. Además se observaron picos de cruce entre la señal del carbono C-5 y los protones H-3, así como entre el carbono C-4 y los protones H-2 y H-3, confirmando la presencia del anillo de tiazolinona. Por otro lado, el espectro (+)-ESIMS de alta resolución mostró el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 287.0529 (masa calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: 287.0518), confirmando la estructura del compuesto.

Llegados a este punto y debido a la fácil deshidratación del alcohol, se planteó la necesidad de proteger el grupo hidroxilo, por lo que, al igual que en el método del nitrilo, se intentó llevar a cabo la protección de este grupo y una vez protegido, volver a usar las mismas condiciones de obtención de la tiazolina deseada.

Los intentos de protección formando diferentes éteres de silicio y éteres de alquilo resultaron infructuosos. También se intentó llevar a cabo la protección simultánea de los grupos amino e hidroxilo mediante la formación de una oxazolidinona utilizando la metodología empleada por Merino y col. en la síntesis de L-isoserinal,¹⁷⁹ en la que tiene lugar una ciclación intramolecular con el grupo *terc*-butoxicarbonilo cuando se emplea hidruro sódico. Al aplicar estas condiciones sobre nuestros sustratos **182a** y **185** no se obtuvieron los productos deseados (Esquema 89).

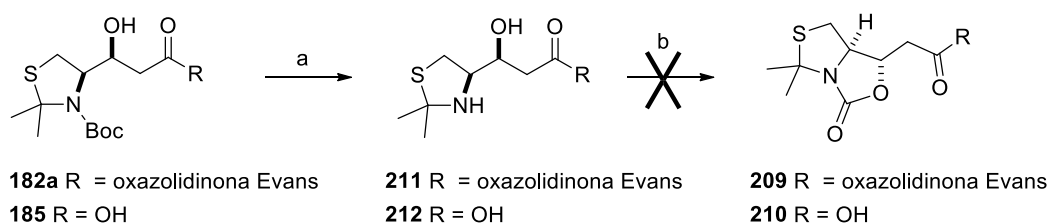


Esquema 89.

La protección del hidroxilo secundario de **182a** y **185** formando una oxazolidinona también se intentó empleando el agente CDI. Para ello, primero se llevó a cabo la eliminación del grupo protector *terc*-butoxicarbonilo, tratando dichos compuestos con ácido trifluoroacético en diclorometano. El posterior tratamiento de los intermedios **211** y **212** con CDI en THF,¹⁸⁰ tampoco condujo a los compuestos esperados (Esquema 90).

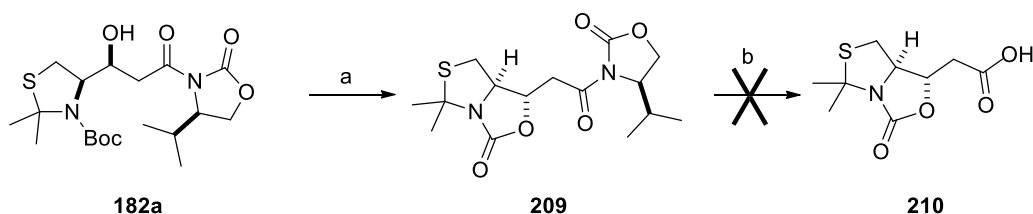
¹⁷⁹ Junquera, F.; Merchán, F. L.; Merino, P.; Tejero, T. *Tetrahedron* **1996**, 52, 7045-7052.

¹⁸⁰ Bates, R. W.; Boonsombat, J. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 520-523.



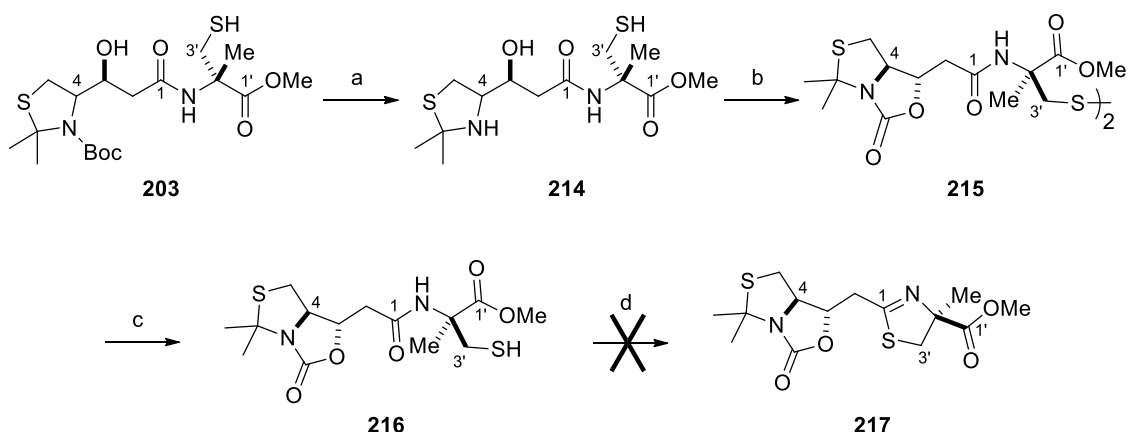
Esquema 90. *Reactivos y condiciones:* (a) $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (5:1) (Rto. cuantitativo); (b) CDI, THF.

Finalmente, esta protección simultánea se logró al tratar **182a** primero con ácido trifluoroacético en diclorometano para eliminar el grupo protector Boc y después con trifosgeno y DIPEA en diclorometano.¹⁸¹ Una vez obtenida la oxazolidinona **209**, su tratamiento con hidróxido de litio en THF/ H_2O para eliminar el auxiliar quiral, no condujo al ácido carboxílico deseado **210** (Esquema 91).



Esquema 91. *Reactivos y condiciones:* (a) 1. $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (5:1); 2. trifosgeno, CH_2Cl_2 (62% para los dos pasos); (b) LiOH, THF/ H_2O .

En vista a estos resultados se decidió invertir los pasos y realizar la protección de los grupos amino e hidroxilo con trifosgeno una vez eliminado el auxiliar quiral y realizado el acoplamiento con la metilcisteína, es decir, sobre el compuesto **203**. En el Esquema 92 se representa la ruta planteada para obtener la tiazolina **217** mediante esta nueva alternativa.



Esquema 92. *Reactivos y condiciones:* (a) $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:5); (b) trifosgeno, CH_2Cl_2 (53% para los dos pasos); (c) NaBH_4 , THF/MeOH (cuantitativo); (d) $\text{TFA}/\text{tolueno}$ (1:9), Δ .

¹⁸¹ Danielsson, J.; Toom, L.; Somfai, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 607-613.

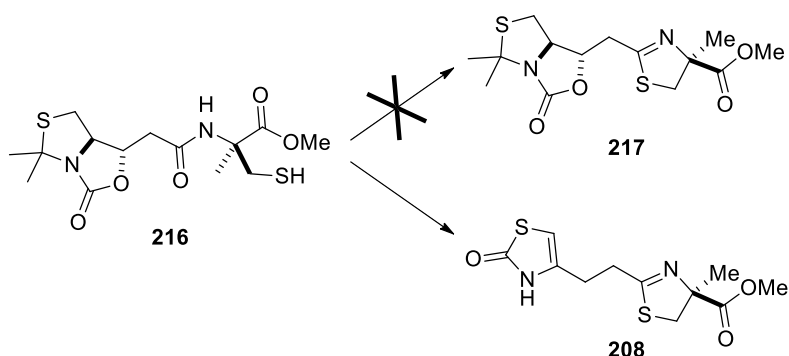
La eliminación del grupo *tert*-butoxicarbonilo de **203** con ácido trifluoroacético y posterior tratamiento de la amina resultante con trifosgeno y DIPEA en CH₂Cl₂, rindió el dímero **215** con un 53% de rendimiento para los dos pasos.

La formación de la oxazolidinona **215** se confirmó por su espectro de RMN de ¹³C al mostrar la presencia de una señal a 165.9 ppm, correspondiente al carbonilo de este anillo. Por otra parte, el espectro de RMN de ¹H mostró un desplazamiento a mayor frecuencia y un cambio de multiplicidad de las señales correspondientes a los protones H-3'a y H-3'b, resonando como dos dd a 3.37 ppm y a 3.12 ppm en **203** y como dos dobletes (*J* = 14.1 Hz) a 3.60 ppm y a 3.38 ppm en **215**, lo que indicó la formación del puente disulfuro. Además, la estructura de **215** quedó confirmada mediante su espectro (+)-ESI de alta resolución al mostrar el ión [M+Na]⁺ a *m/z* 745.1690 (masa calculada para C₂₈H₄₂N₄O₁₀NaS₄: 745.1676).

La ruptura del puente disulfuro de **215** empleando exceso de borohidruro sódico (25 eq.) en una mezcla 1:1 THF/MeOH, condujo al monómero **216** con rendimiento cuantitativo. Esta reducción se confirmó por su espectro RMN de ¹H al mostrar la aparición de un doble doblete (*J* = 9.2, 8.7 Hz) a 1.36 ppm correspondiente al protón del grupo SH. También se observó un desplazamiento y diferente multiplicidad de los protones diastereotópicos H-3', que resonaban en **215** como dobletes (*J* = 14.0 Hz) a 3.60 ppm y 3.38 ppm, resonando en **216** como dd a 3.45 ppm y 3.15 ppm. Por otro lado, el espectro de RMN de ¹³C mostró el desplazamiento químico a menor frecuencia (de 44.6 a 30.1 ppm) del carbono C-3' en su espectro de RMN de ¹³C.

Finalmente, el tratamiento de la amida **216** con ácido trifluoroacético en tolueno a reflujo, no condujo al producto buscado **217**, tal como se pudo comprobar por espectroscopia de RMN utilizando técnicas mono y bidimensionales.

Por otro lado, el tratamiento de **216** con (NH₄)₂MoO₄ en tolueno con eliminación azeotrópica de agua, tampoco condujo al compuesto deseado sino que se volvió a observar la formación del compuesto **208** (Esquema 93).

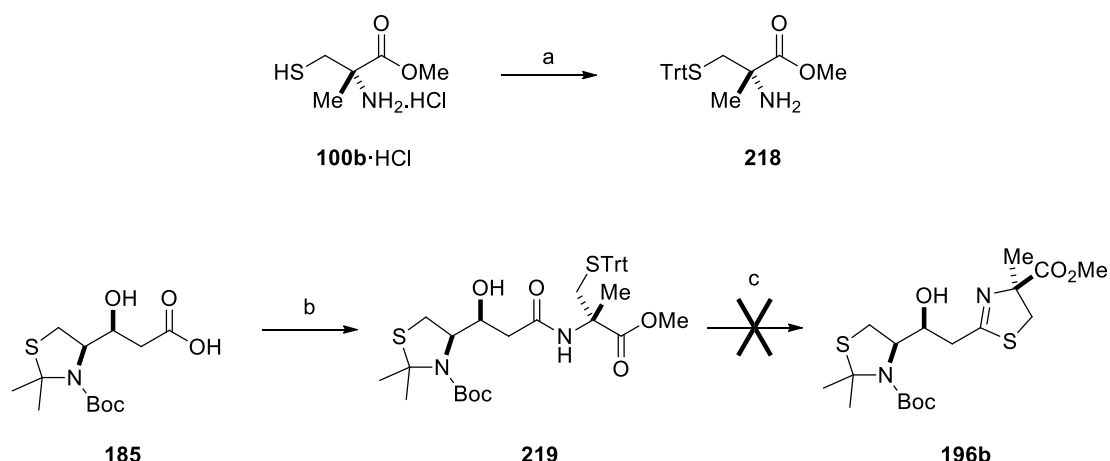


Esquema 93. Tratamiento de **216** con (NH₄)₂MoO₄ en tolueno a reflujo con eliminación azeotrópica de agua.

En vista de la falta de éxito en la obtención de la tiazolina deseada, se planteó emplear el método de Kelly modificado.

A) Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-protegidas con tritilo: método de Kelly modificado

En el Esquema 94 se representa la ruta seguida para lograr la obtención de la tiazolina **196b** mediante la ciclación seguida de la pérdida de una molécula de agua de la *N*-(2-mercaptoetil)amida **219**.



Esquema 94. Reactivos y condiciones: (a) TrtCl, DMF (93%); (b) **218**, CDI, DMF/THF, 0 °C (66%); (c) Ph₃PO, Tf₂O, CH₂Cl₂, -20 °C.

El primer paso de la ruta propuesta supuso la protección del grupo tiol de **100b·HCl** con cloruro de tritilo en DMF,¹⁸² para formar **218** con un rendimiento del 93%. La aparición en su espectro de RMN de ¹H de dos multipletes a 7.43 y 7.25 ppm correspondientes a 15 protones aromáticos, confirmó la introducción de este grupo.

La reacción de acoplamiento entre el ácido **185** y la amina **218** empleando el agente acoplante CDI en THF/DMF, proporcionó la amida **219** con un 66% de rendimiento. La formación del enlace amida quedó confirmada mediante espectroscopia de RMN de ¹H y ¹³C así como por espectrometría de masas. En el espectro de RMN de ¹H se observó el desplazamiento químico a mayor frecuencia de los dobletes (*J* = 11.7 Hz) correspondientes a los protones en α al azufre (H-3'a y H-3'b) en comparación con **218**, resonando a 2.79 y 2.97 ppm en el compuesto **219**. Por otro lado, la comparación de los espectros de RMN de ¹³C de los compuestos **185** y **219**, mostró el desplazamiento a menor frecuencia de la señal correspondiente al carbono carbonílico que aparece a 175.8 ppm en **185**, resonando a 171.1 ppm en **219**, lo que indicó la

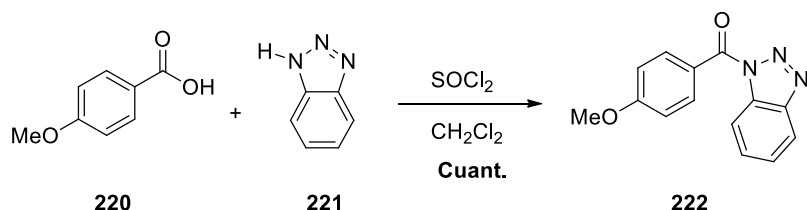
¹⁸² Yeo W. S.; Min, D. H.; Hsieh, R. W.; Greene, G. L. Mrksich, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5480-5483.

formación del enlace amida. El espectro (+)-HR-ESIMS corroboró la estructura de este compuesto al mostrar un pico a m/z 701.2700 correspondiente a su ión $[M+Na]^+$ (masa calculada para $C_{37}H_{46}N_2O_6NaS_2$: 701.2689).

Por último se llevó a cabo la metodología empleada por el grupo de investigación de J. W. Kelly, en la que se obtienen tiazolinas de forma fácil y eficiente a partir de sustratos de cisteína *N*-acilados mediante el tratamiento con óxido de trifenílfosfina y anhídrido trifílico en CH_2Cl_2 a $-20\text{ }^\circ C$.^{145,183} Lamentablemente, al aplicar estas condiciones de reacción sobre la amida **219**, no se observó la formación del producto deseado.

B) Ciclación de *N*-(2-mercaptoetil)amidas *S*-protegidas con un grupo benciloxicarbonilo

La ruta sintética empleada en esta nueva alternativa comenzó con la preparación del *N*-(acil)-1*H*-benzotriazol **222**. Para ello se trató el ácido *p*-metoxibenzoico (**220**) y 1*H*-benzotriazol (**221**), con $SOCl_2$ en CH_2Cl_2 a $-20\text{ }^\circ C$, obteniéndose el producto esperado con rendimiento cuantitativo (Esquema 95).¹⁸⁴



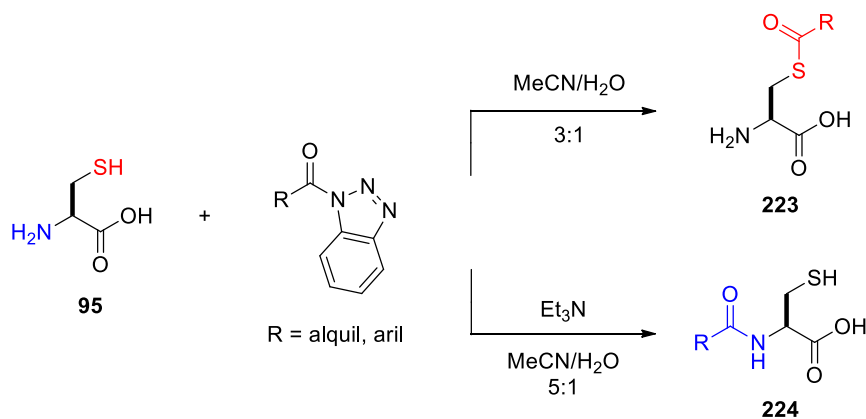
Esquema 95. Obtención del compuesto **222**.

Este compuesto se utilizó para acilar el grupo tiol de la 2-metil-D-cisteína. En el año 2009 Steel y col. publicaron un trabajo en el que *N*-(acil)-1*H*-benzotriazoles reaccionan con L-cisteína (**95**) a $20\text{ }^\circ C$ para dar exclusivamente *N*-acil-L-cisteínas **223** en presencia de trietilamina en CH_3CN/H_2O (3:1), pero en ausencia de base y en CH_3CN/H_2O (5:1) se forman las *S*-acil-L-cisteínas **224** (Esquema 96).¹⁸⁵

¹⁸³ Petersson, M. J.; Jenkis, I. D.; Loughlin, W. A. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 739-746.

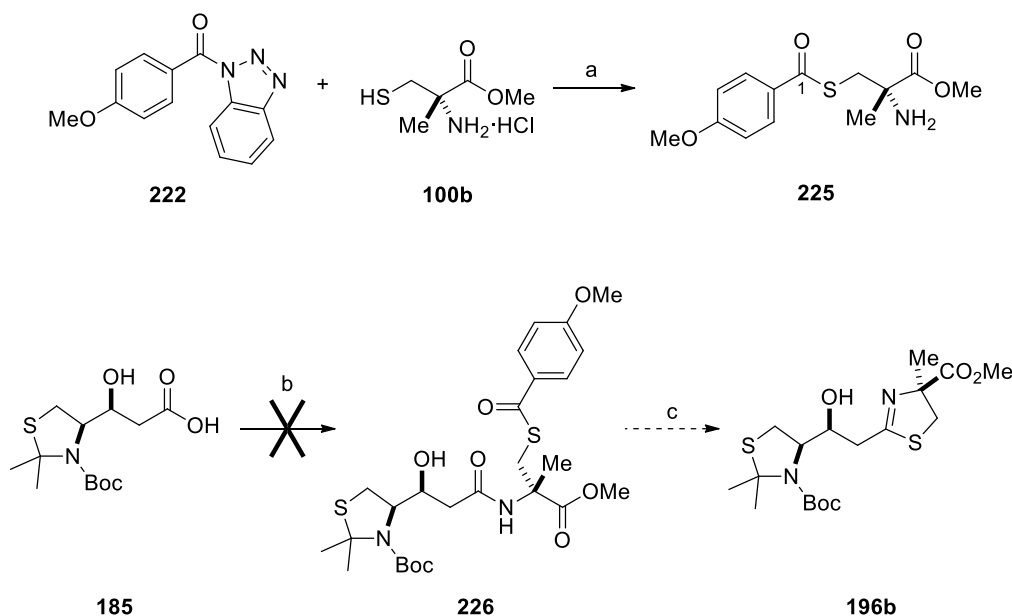
¹⁸⁴ Katritzky, A. R.; Angrish, P.; Suzuki, K. *Synthesis* **2006**, 411-424.

¹⁸⁵ Katritzky, A. R.; Tala, S. R.; Abo-Dya, N. E.; Gyanda, K.; El-Dien, El-Gendy, B. M.; Abdel-Samii, Z. K.; Steel, P. J. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 7165-7167.



Esquema 96.

Siguiendo este procedimiento, se trató **222** con el éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (**100b**) empleando una mezcla 5:1 CH₃CN/H₂O, obteniéndose exclusivamente la S-acil-cisteína **225** con rendimiento cuantitativo (Esquema 97). La aparición en su espectro de RMN de ¹³C de la señal a 194.5 ppm, correspondiente al C-1 confirmó la presencia de un grupo tioéster y por tanto, la formación de **225**.



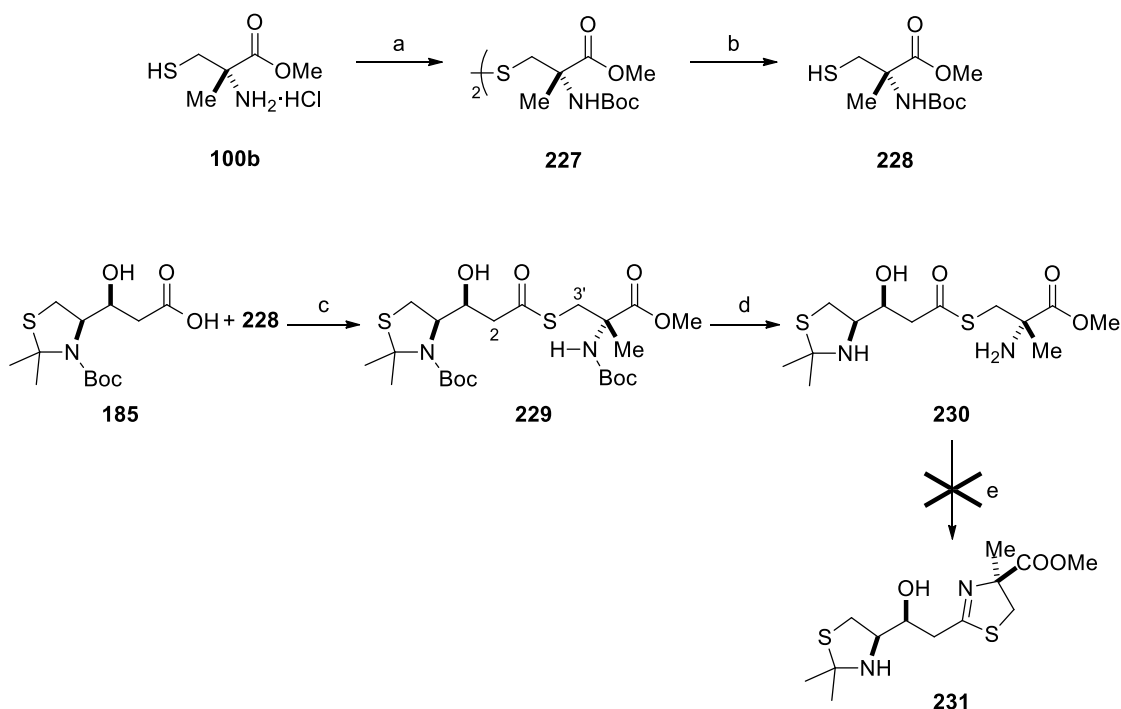
Esquema 97. *Reactivos y condiciones:* (a) CH₃CN/H₂O (5:1) (cuantitativo); (b) **225**, TBTU, Et₃N, DMF; (c) PCl₅, CH₂Cl₂.

Como se puede observar en el Esquema 97, se planteó una ruta sintética en la que se pretende obtener la tiazolina **196b** a partir de la amida **226**, usando el procedimiento desarrollado por Ino y Murabayashi en la síntesis total de micacocidina.^{100b} Esta metodología se fundamenta en la preparación de tiazolinas a partir de derivados de N-acilcisteaminas cuando se emplea pentacloruro de fósforo. Pero lamentablemente, la reacción de acoplamiento entre el ácido **185** y la amina **225** usando el agente acoplante

TBTU y trietilamina en DMF, no condujo a la amida **226**, según se pudo comprobar por espectroscopia de RMN.

4.4. Método basado en la ciclación de tioésteres

La ruta sintética planteada para llevar a cabo este método se basa en la formación del tioéster **230**, obtenido a partir del ácido **185** y el tiol **228**, que al someterse a reflujo en tolueno debería formar la tiazolina esperada (Esquema 98).



Esquema 98. Reactivos y condiciones: (a) Boc_2O , Et_3N , DMF (97%); (b) NaBH_4 , THF/MeOH (cuantitativo); (c) BOPCl, Et_3N , CH_2Cl_2 (57%); (d) TFA/ CH_2Cl_2 (1:5); (e) Tolueno, Δ .

Para ello el primer paso supuso la protección del grupo amino del éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (**100b**) con Boc, para después realizar la formación del tioéster. La elección de este grupo protector se debió a su fácil eliminación en medio ácido. Así el tratamiento de **100b** con dicarbonato de di-*tert*-butilo y trietilamina en CH_2Cl_2 originó el dímero **227** en un rendimiento del 87%.¹⁸⁶ Aunque en la mayoría de los trabajos publicados no se recoge la formación de este dímero, su obtención se confirmó mediante espectrometría de masas, al observarse el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 497.1986 en su espectro (+)-HR-ESI (masa calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$: 497.1985).

La ruptura del puente disulfuro de **227**, empleando la misma metodología que en los casos descritos anteriormente, proporcionó el monómero **228** con rendimiento cuantitativo. En el espectro de RMN de ^1H se observó el desplazamiento a menor

¹⁸⁶ Threadgill, M. D.; Gledhill, A. P. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 2940-2949.

frecuencia y el cambio de multiplicidad de los protones en β al grupo amino (H-3a y H-3b), mientras que en su espectro de RMN de ^{13}C se observó el desplazamiento a menor frecuencia (30.9 ppm) de la señal correspondiente a C-3. Adicionalmente, la espectrometría de masas de (+)-ESI de alta resolución confirmó la formación del monómero al mostrar un pico a m/z 272.0922 correspondiente al ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (masa calculada para $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{NaS}$: 272.0927).

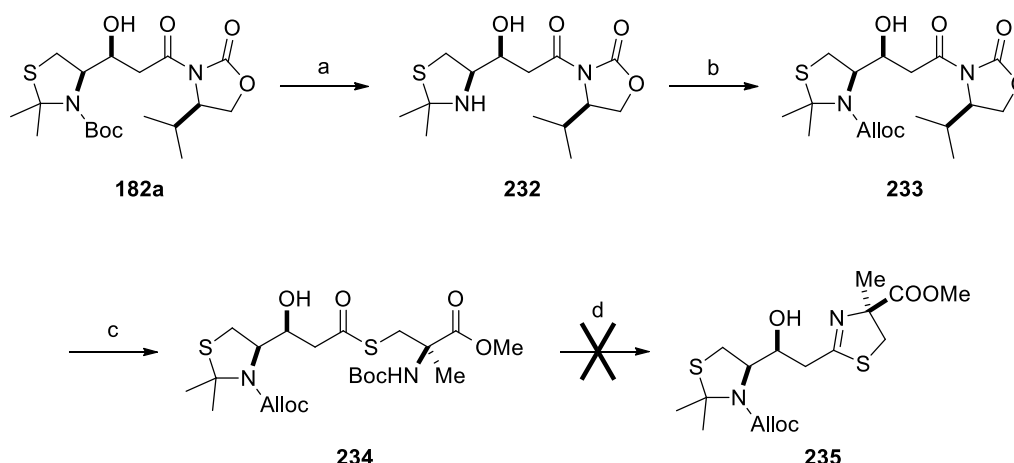
El tratamiento del ácido **185** con el tiol **228** empleando el agente acoplante BOPCl y trietilamina en CH_2Cl_2 ,¹⁸⁷ condujo al tioéster **229** con un rendimiento del 57%. El espectro de RMN de ^1H de **229** confirmó su estructura al observarse el desplazamiento a mayor frecuencia y el cambio de multiplicidad de los protones situados en β al grupo amino (H-3'a y H-3'b) en comparación con la amina **228**, y al observarse el desplazamiento a mayor frecuencia de los protones diastereotópicos H-2a y H-2b, en comparación con los del ácido **185**. Además, su espectro de RMN de ^{13}C mostró la presencia de una señal a 197.1 ppm, que se asignó al carbono carbonílico C-1, confirmando la presencia del grupo tioéster.

La eliminación de los dos grupos protectores *tert*-butoxicarbonilo de **229** empleando medio ácido suave, dio lugar a **230**, cuyo espectro RMN de ^1H mostró la desaparición de las señales de los dos singuletes en torno a 1.5 ppm, correspondientes a los metilos del grupo *tert*-butilo, confirmando su obtención.

Llegados a este punto, nos encontramos de nuevo con el problema de la formación de la tiazolina deseada. Al emplear la metodología de Fukuyama y col. en la que se obtienen anillos tiazolínicos por tratamiento de tioésteres similares a **230** con tolueno a reflujo,¹⁵⁴ no se logró la obtención de **231**, tal como se pudo comprobar por espectroscopia de RMN.

Todo parece indicar que con el grupo amino de la tiazolidina libre, al someterse a reflujo en tolueno se elimina también el grupo isopropilidenilo. Para evitar este problema, se propuso proteger la amina con un grupo protector ortogonal al Boc, como es el Alloc. De esta forma, la eliminación del *tert*-butoxicarbonilo de la 2-metil-D-cisteína en medio ácido, permitiría dejar intacto el grupo Alloc, que resiste a estas condiciones. Nos planteamos, por tanto, llevar a cabo el mismo esquema sintético pero con este nuevo grupo protector (Esquema 99).

¹⁸⁷ Han, F. S.; Osajima, H.; Cheung, M.; Tokuyama, H.; Fukuyama, T. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 3026-3038.



Esquema 99. *Reactivos y condiciones:* (a) TFA/CH₂Cl₂ (1:5) (cuantitativo); (b) cloroformiato de alilo, Et₃N, CH₂Cl₂ (90%); (c) 1. LiOH, THF/H₂O (1:4); 2. **228**, BOPCl, Et₃N, CH₂Cl₂ (50% para los 2 pasos); (d) 1. TFA/CH₂Cl₂ 1:5; 2. Tolueno, Δ.

La síntesis de la tiazolina **235** mediante esta ruta alternativa, comenzó con la eliminación del Boc de **182a** empleando, al igual que en los casos descritos anteriormente, ácido trifluoroacético en CH₂Cl₂ para obtener la amina **232** con rendimiento cuantitativo, cuya protección con cloroformiato de alilo y trietilamina en CH₂Cl₂ a 0 °C,¹⁸⁸ condujo al carbamato **233** con un rendimiento del 90%. El espectro de RMN de ¹H de **232** confirmó la eliminación del Boc al mostrar la desaparición del singlete a 1.50 ppm y el espectro de **233** indicó la introducción del Alloc al mostrar la aparición de las señales a 5.93, 5.31, 5.21 y 4.55 ppm, correspondientes al grupo alilo.

La eliminación del auxiliar quiral de **233** con LiOH en una mezcla THF/H₂O condujo al correspondiente ácido carboxílico que se trató inmediatamente con el tior **228** en presencia del agente acoplante BOPCl y trietilamina en CH₂Cl₂, obteniéndose el tioéster **234** con un rendimiento del 50% para los dos pasos. El espectro de RMN de ¹³C del producto obtenido mostró la presencia de un carbono a 195.4 ppm, indicando la formación del enlace tioéster. Adicionalmente, la estructura de **234** se confirmó por espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución al observarse el ión [M+H]⁺ a *m/z* 521.1966 (masa calculada para C₂₂H₃₇N₂O₈S₂: 521.1985).

El problema encontrado de nuevo fue la formación de la tiazolina, ya que el tratamiento de **234** con ácido trifluoroacético y posterior reflujo en tolueno no condujo al producto deseado, según se pudo comprobar utilizando técnicas monodimensionales de RMN: ¹H, ¹³C y DEPT-135, junto con experimentos 2D-RMN: ¹H-¹H COSY, HSQC y HMBC.

A partir de estos resultados experimentales, se deduce que los principales problemas en la formación de la tiazolina se encuentran en las condiciones de reacción

¹⁸⁸ Nuhant, P.; Roush, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5340-5343.

empleadas, ya que son demasiado enérgicas para que resistan los grupos protectores. Además, la presencia del grupo hidroxilo libre puede ser otra causa que impide la formación del fragmento C.

Como estrategia futura a realizar, se plantea un cambio de ruta sintética en la que se empleen unas condiciones más suaves para la obtención del anillo tiazolínico, como podría ser la reacción de Staudinger aza-Wittig. También se propone cambiar los grupos protectores, así como proteger el grupo hidroxilo.

5. CONCLUSIONES

- ✓ Se realizó la primera síntesis total de prepiscibactina (**80**), un posible intermedio en la ruta biosintética de piscibactina (**79**), sideróforo aislado en nuestro grupo de investigación de la bacteria *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, responsable de la pasteurelosis en peces.
- ✓ Se obtuvo un producto análogo a prepiscibactina, epímero en la posición C-10, denominado 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**).
- ✓ Se puso a punto una reacción clave en la síntesis de piscibactina: la reacción de Reformatsky en presencia de SmI_2 , que fue altamente diastereoselectiva (rd > 99:1) en la generación del centro quiral C-13 y además, se empleó ZnCl_2 para controlar de forma diastereoselectiva la generación del centro quiral C-10.
- ✓ Se confirmó la estructura propuesta para prepiscibactina (**80**) y se estableció su configuración absoluta como (9*R*,10*S*,12*R*,13*S*). Además, teniendo en cuenta su similitud estructural, se diseñó una ruta sintética para piscibactina.
- ✓ Se consiguió una aproximación a la síntesis de piscibactina (**80**), siendo el mayor problema encontrado la formación del anillo de tiazolina a partir del fragmento B. Las principales causas de que no se haya formado este anillo son la presencia del grupo hidroxilo libre y los grupos protectores escogidos, ya que son demasiado lábiles en las condiciones utilizadas en la reacción de ciclación. Como alternativa para solventar estos problemas se propone lo siguiente:
 - Proteger el grupo hidroxilo.
 - Utilizar unas condiciones más suaves para la obtención de la tiazolina en las que resistan los grupos protectores, o emplear otros grupos protectores menos lábiles.

Capítulo IV

Modificación del método de Murata en compuestos acíclicos con equilibrios conformacionales complejos

CAPÍTULO IV

MODIFICACIÓN DEL MÉTODO DE MURATA EN COMPUESTOS ACÍCLICOS CON EQUILIBRIOS CONFORMACIONALES COMPLEJOS

1. ANTECEDENTES

1.1. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento "JCBA": el método de Murata

Como se ha mencionado en el Capítulo I, Murata y col. desarrollaron una metodología que permite determinar la configuración relativa de los centros quirales en sistemas flexibles 1,2 y 1,3-disustituídos basándose en la observación de los valores experimentales de las constantes de acoplamiento protón-protón ($J(\text{H,H})$, homonucleares) y carbono-protón ($J(\text{C,H})$, heteronucleares).⁴³

En realidad, Murata y col. ya habían utilizado anteriormente las constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la asignación de la configuración relativa de productos naturales, en particular de sus fragmentos acíclicos.¹⁸⁹ Sin embargo, no fue hasta la descripción de esta metodología específica publicada en el año 1999, que su utilización despertó un interés general y desde entonces se ha aplicado exitosamente a

¹⁸⁹ (a) Matsumori, N.; Murata, M.; Tachibana, K. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12229-12238. (b) Matsumori, N.; Nonomura, T.; Sasaki, M.; Murata, M.; Tachibana, K.; Satake, M.; Yasumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1269-1272. (c) Sakai, R.; Kamiya, H.; Murata, M.; Shimamoto, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4112-4116.

sistemas 1,2 y 1,3-dimetínicos con sustituyentes hidroxilo/metoxilo,¹⁹⁰ amino¹⁹¹, cloro¹⁹² o incluso azufre¹⁹³ unidos a carbonos asimétricos.

1.1.1. Las constantes de acoplamiento y el ángulo diedro

Las constantes de acoplamiento escalares constituyen un parámetro clave en la espectroscopia de RMN ya que son muy útiles para la realización de estudios conformacionales y configuracionales de compuestos orgánicos, obteniéndose, por lo tanto, una valiosa información de la disposición de los grupos funcionales presentes en el compuesto. No dependen de la intensidad del campo magnético aplicado, por lo que resulta una medida fiable y reproducible independiente del espectrómetro que se emplee.

En particular, las constantes de acoplamiento vecinales protón-protón, $^3J(\text{H,H})$, que se suelen obtener fácilmente a partir de un espectro ^1H -RMN, se utilizan para determinar la disposición relativa entre protones, sobre todo en sistemas rígidos, olefínicos y aromáticos debido a su dependencia con los ángulos diedros. Sin embargo, el uso exclusivo de las $^3J(\text{H,H})$ en sistemas flexibles es insuficiente ya que se necesitan más relaciones entre átomos para deducir su posición geométrica del sistema. Esta información es suministrada por las constantes de acoplamiento heteronucleares a dos y tres enlaces entre carbonos y protones ($^2J(\text{C,H})$ y $^3J(\text{C,H})$).¹⁹⁴

Las constantes de acoplamiento heteronucleares carbono-protón a tres enlaces $^3J(\text{C,H})$, al igual que $^3J(\text{H,H})$, dependen del ángulo diedro siguiendo una ecuación tipo Karplus,¹⁹⁵ de manera que la convierte en una herramienta muy útil en estudios conformacionales. Por otro lado, las constantes de acoplamiento carbono-protón a dos

¹⁹⁰ (a) Andersson, T.; Nakanishi, K.; Carter, G. T. *Org. Lett.* **2000**, 2, 919-922. (b) Ikeda, H.; Matsumori, N.; Ono, M.; Suzuki, A.; Isogai, A.; Nagasawa, H.; Sakuda, S. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 438-444. (c) Bassarello, C.; Bifulco, G.; Zampella, A.; D'Auria, M. V.; Riccio, R.; Gomez-Paloma, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 39-44. (d) Campagnuolo, C.; Fattorusso, C.; Fattorusso, E.; Ianaro, A.; Pisano, B.; Taglialatela-Scafati, O. *Org. Lett.* **2003**, 5, 673-676. (e) Cimino, P.; Bifulco, G.; Evidente, A.; Abouzeid, M.; Riccio, R.; Gomez-Paloma, L. *Org. Lett.* **2002**, 4, 2779-2782. (f) Espelt, L.; Parella, T.; Bujons, J.; Solans, C.; Joglar, J.; Delgado, A.; Clapes, P. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 4887-4899. (g) Plaza, A.; Bifulco, G.; Keffer, J. L.; Lloyd, J. R.; Baker, H.; Bewley, C. A. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 504-512.

¹⁹¹ (a) Bassarello, C.; Bifulco, G.; Evidente, A.; Riccio, R.; Gomez-Paloma, L. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 8611-8613. (b) Randazzo, A.; Bifulco, G.; Giannini, C.; Bucci, M.; Debitus, C.; Cirino, G.; Gomez-Paloma, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10870-10876. (c) Williamson, R. T.; Singh, I. P.; Gerwick, W. H. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7025-7033. (d) Ardá, A.; Rodríguez, J.; Nieto, R. M.; Bassarello, C.; Gomez-Paloma, L.; Bifulco, G.; Jiménez, C. *Tetrahedron* **2005**, 61, 10093-10098.

¹⁹² Nilewski, C.; Geisser, R. W.; Ebert, M. O.; Carreira, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 15866-15876.

¹⁹³ Rodríguez, J.; Nieto, R. M.; Blanco, M.; Valeriote, F. A.; Jiménez, C.; Crews, P. *Org. Lett.*, **2014**, 16, 464-467.

¹⁹⁴ (a) Hines, J. V.; Landry, S. M.; Varani, G.; Tinoco, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 5823-5831. (b) Podlasek, C. A.; Wu, J.; Stripe, W. A.; Bondo, P. B.; Serianni, A. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 8635-8644. (c) Wang, A. C.; Bax, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2483-2494.

¹⁹⁵ (a) Karplus, M. *J. Chem. Phys.* **1959**, 30, 11-14. (b) Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2870-2871.

enlaces $^2J(C,H)$, en las que se involucran otros núcleos que describan un ángulo diedro, también proporcionan información conformacional valiosa cuando el carbono acoplado lleva un sustituyente electronegativo como puede ser un átomo de oxígeno o un halógeno.

En la Figura 66 se representa, mediante proyecciones de Newman, la dependencia del ángulo diedro con las constantes de acoplamiento. En el caso de las $^3J(H,H)$, cuando el ángulo diedro que describen los protones implicados es de 180° (disposición *antiperiplanar*), su valor es grande mientras que cuando el ángulo diedro es de 60° (disposición *sinclinal*), su valor es pequeño (Figura 66A). Una tendencia similar ocurre con las constantes de acoplamiento heteronucleares $^3J(C,H)$ (Figura 66B). Por el contrario, el valor de $^2J(C,H)$ es pequeño cuando el átomo electronegativo X unido al ^{13}C se encuentra en disposición *antiperiplanar* al protón geminal, mientras que es grande (en valor absoluto, ya que estas constantes suelen ser negativas) cuando se encuentra en disposición *sinclinal* (Figura 66C).

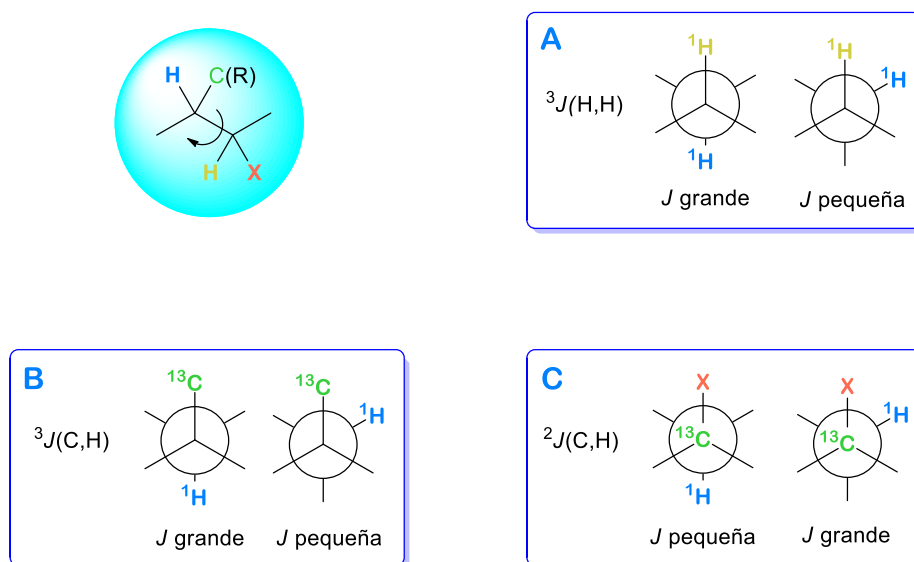


Figura 66. Dependencia del ángulo diedro con las constantes de acoplamiento espín-espín. (A) Constante de acoplamiento homonuclear vecinal protón-protón $^3J(H,H)$. (B) Constante de acoplamiento heteronuclear vecinal carbono-protón $^3J(C,H)$. (C) Constante de acoplamiento heteronuclear geminal carbono-protón $^2J(C,H)$.

En general, los valores de las constantes de acoplamiento homo/heteronucleares dependen de los sustituyentes del segmento molecular de interés, y poseen valores comprendidos en un intervalo entre 0 a 16 Hz en el caso de $^3J(H,H)$, de 0 a 9 Hz en el caso de las $^3J(C,H)$, y de -6 a 3 Hz en el caso de las $^2J(C,H)$. Desde un punto de vista cualitativo y con el fin de describirlas de una forma más directa, las constantes se pueden clasificar en pequeñas, medianas o grandes.

Recientemente, nuestro grupo de investigación a través del trabajo de tesis doctoral de María Blanco Méndez, estableció la siguiente clasificación de los valores de las constantes de acoplamiento $^3J(\text{H,H})$ y $^{2,3}J(\text{C,H})$ en función del tipo de sustituyente unido al carbono acoplado.¹⁹⁶ En la Tabla 14 se muestran los intervalos en Hz de los valores de las constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para sistemas 1,2-dimetínicos con un sustituyente oxigenado (derivados O-C), con dos sustituyentes oxigenados (derivados O-O), con un sustituyente nitrogenado y otro oxigenado (derivados O-N y N-O), con dos sustituyentes nitrogenados (derivados N-N) y con dos sustituyentes clorados (derivados Cl-Cl).

Tabla 14. Intervalos de valores en Hz de las $^3J(\text{H,H})$, $^3J(\text{C,H})$ y $^2J(\text{C,H})$ en sistemas 1,2-dimetínicos O-C, O-O, O-N, N-O, N-N y Cl-Cl. Tabla extraída de la tesis doctoral de María Blanco.

SISTEMA	$^3J(\text{H,H})$		$^3J(\text{C,H})$		$^2J(\text{C,H})$	
	grande	pequeña	grande	pequeña	grande	pequeña
O-C	8 a 11	1 a 4	6 a 8	1 a 3	-5 a -7	0 a -2
O-O	7 a 10	0 a 3	5 a 7	0 a 3	-4 a -6	2 a 0
O-N ^[a]	7 a 10	0 a 3	5 a 8	0 a 3	-5 a -8	3 a -1
N-O ^[b]	7 a 10	0 a 3	5 a 8	0 a 3	-2 a -5	3 a 0
N-N	7 a 10	0 a 3	5 a 7	0 a 3	-4 a -7	3 a -1
Cl-Cl	7 a 10	0 a 3	4 a 6	0 a 2	-4 a -7	3 a -1

^[a]El carbono acoplado está unido a O, el ángulo diedro es O-C-N-C-H. ^[b]El carbono acoplado está unido a N, el ángulo diedro es N-C-O-C-H.

1.1.2. Fundamentos del análisis configuracional basado en *J*

El análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento de un sistema lineal 1,2-disustituido por X e Y, supone que las conformaciones más probables en torno a un enlace son aquellas que implican rotámeros o confórmeros alternados, y por lo tanto el sistema se puede describir sólo con tres confórmeros. Esto suele ser así para muchos compuestos de cadena lineal con sustituyentes a lo largo de ella en donde, a no ser que los sustituyentes sean muy voluminosos o que existan interacciones intramoleculares (por ejemplo enlaces de hidrógeno), los rotámeros alternados con disposiciones *antiperiplanar* y *sinclinal* son los mayoritarios.

Como en estos sistemas son posibles dos configuraciones diastereoisoméricas relativas, *sin* o *anti*, y cada una de ellas se puede describir mediante tres rotámeros alternados, hay un total de seis confórmeros posibles (Figura 67).

¹⁹⁶ María Blanco. Tesis doctoral "Estudio de constantes de acoplamiento en sistemas acíclicos quirales con átomos de nitrógeno". Universidade da Coruña, Julio 2015.

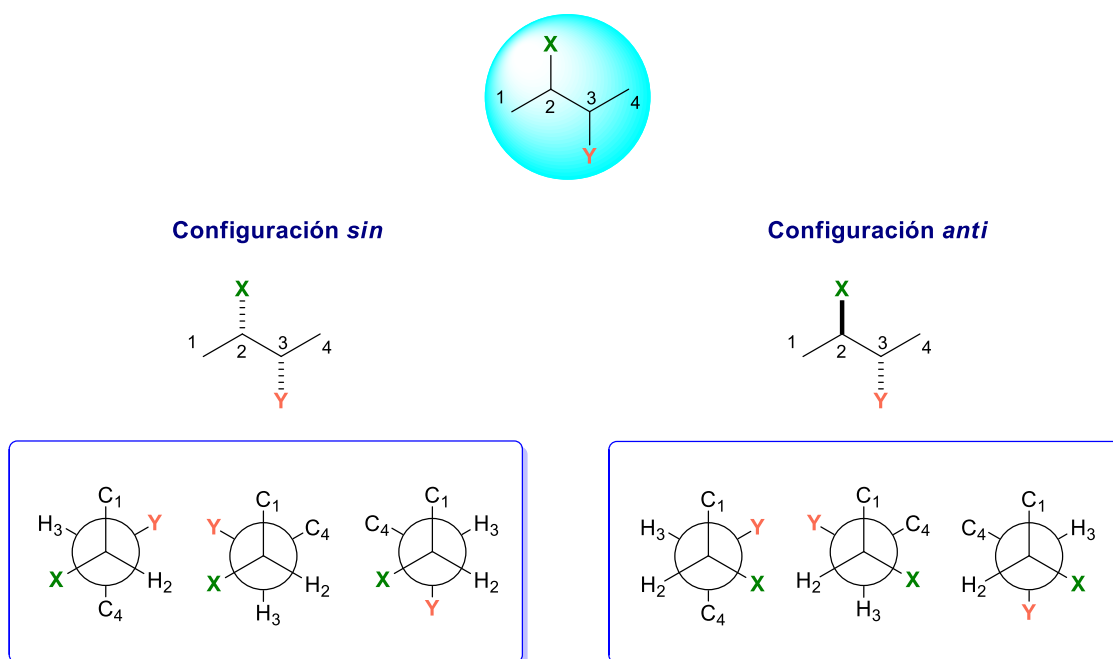


Figura 67. Posibles conformeros en torno al enlace C2—C3.

La metodología de Murata se fundamenta en que el conjunto de valores de $^3J(\text{H,H})$ y $^{2,3}J(\text{C,H})$ de los seis rotámeros representados por proyecciones de Newman en torno a un enlace, se puede diferenciar una de las dos posibles configuraciones relativas *sin* o *anti*.

Murata y col. han estudiado sistemas 1,2 y 1,3-dimetínicos que contienen sustituyentes metoxilo y/o metilo a través de modelos moleculares diseñados para reproducir los conformeros rotacionales de sistemas que aparecen en productos naturales con grupos hidroxilo, metoxilo y metilos vecinales en cadenas lineales (Figura 68).

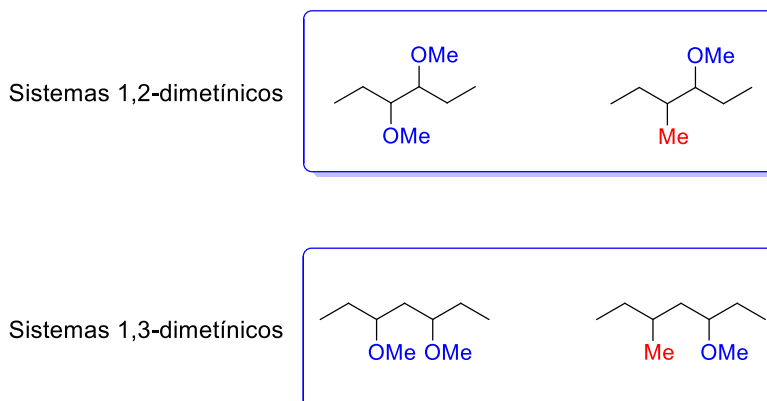


Figura 68. Sistemas estudiados por Murata.

1.1.3. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento de sistemas 1,2 y 1,3-disustituídos.

Esta metodología se aplica a sistemas donde los centros asimétricos están separados por uno o dos enlaces. En estos últimos es necesario que los protones diastereotópicos del grupo metileno intermedio resuenen a diferentes desplazamientos químicos. Así, en función del número de enlaces que separan los centros asimétricos se obtienen los distintos sistemas con las posibles relaciones diedrales.

En la bibliografía científica hay un gran número de ejemplos en donde la aplicación del análisis configuracional basado en las J permitió la asignación de la configuración relativa de sistemas 1,2 y 1,3-disustituídos pertenecientes a cadenas carbonadas acíclicas (Figura 69).¹⁹⁷

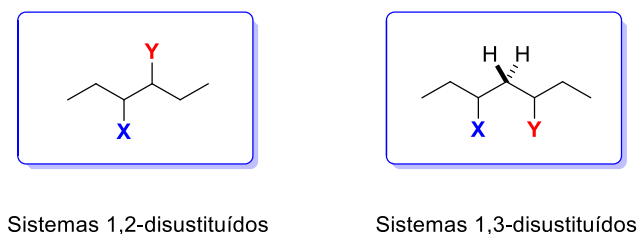


Figura 69.

A) Sistemas 1,2-disustituídos

La metodología empleada implica los siguientes pasos: primero, la estructura del compuesto orgánico de configuración relativa desconocida se divide en varios fragmentos carbonados (enlaces C—C); a continuación, la aplicación de reglas simples para cada confórmero alternado de cada enlace carbono-carbono permite una fácil elucidación de la configuración relativa.

B) Sistemas 1,3-disustituídos

El anterior análisis se puede extender para la determinación de la disposición relativa de sistemas 1,3-disustituídos, tal y como se ha mencionado siempre que los dos protones diastereotópicos del grupo metileno intermedio aparezcan a desplazamientos químicos diferentes y así pueden ser etiquetados como si fueran sustituyentes. Para diferenciar los dos protones metilénicos, se utiliza la nomenclatura Hh para nombrar al protón que resuena a menor desplazamiento químico y Hl al que lo hace a mayor desplazamiento químico. Al unir los dos fragmentos, se obtendrá la disposición relativa de los dos sustituyentes en el espacio.

¹⁹⁷ Bifulco, G.; Dambruoso, P.; Gomez-Paloma, L.; Riccio, R. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 3744-3779.

1.2. Aplicación de la metodología de Murata a modelos quirales con átomos de carbono, oxígeno y nitrógeno

La metodología de Murata implica la aplicación de un procedimiento definido para la elucidación de la configuración relativa. Como se puede observar en el Esquema 100, cada rotámero tiene un conjunto de constantes de acoplamiento homonucleares y heteronucleares definido al que hemos denominado “etiqueta”. Se emplea la siguiente nomenclatura para los valores de $^3J(\text{H,H})$, $^3J(\text{C,H})$ y $^2J(\text{C,H})$:

P: valor pequeño para la constante de acoplamiento.

M: valor mediano para la constante de acoplamiento.

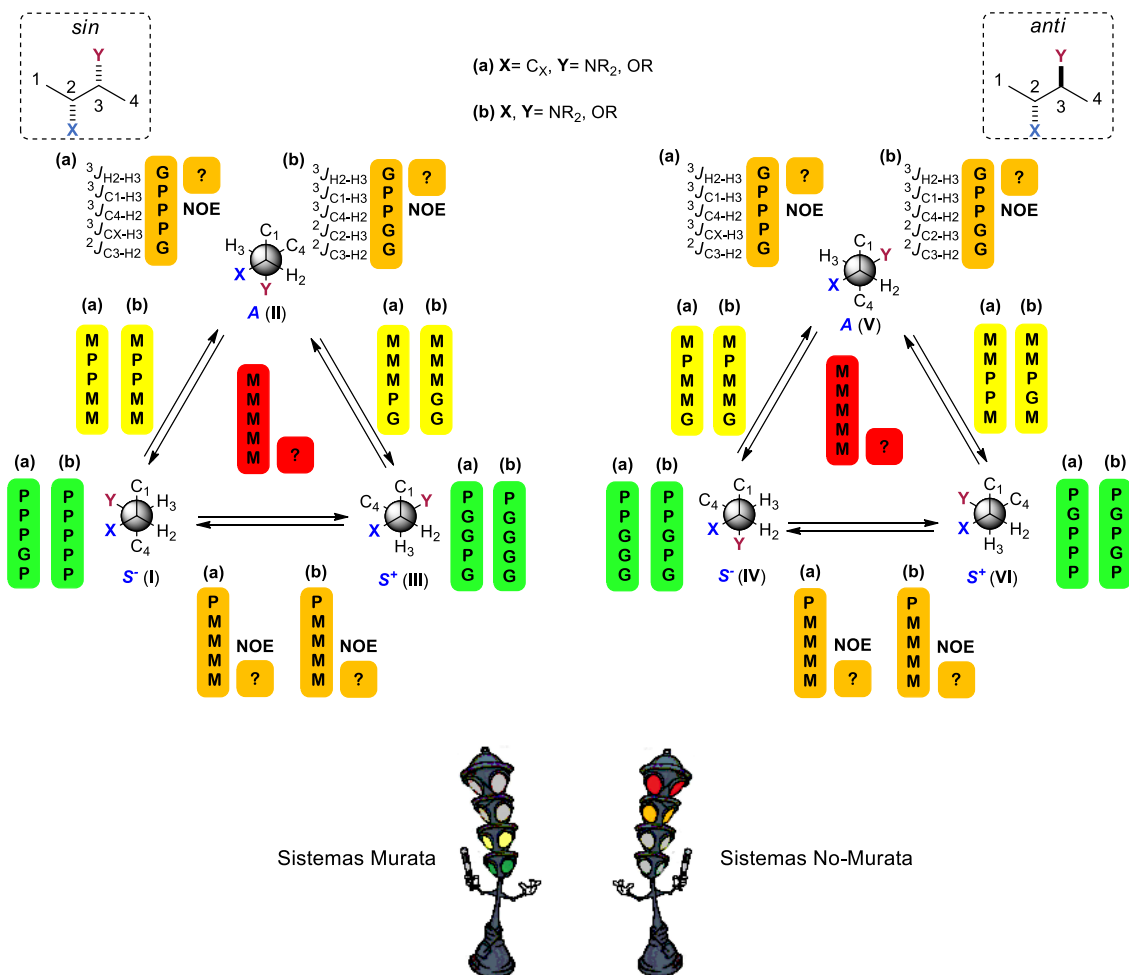
G: valor grande para la constante de acoplamiento.

Cuando los valores de estas constantes son pequeños (**P**) o grandes (**G**), indican la existencia de un rotámero mayoritario. De los seis conformeros alternados posibles en torno a cada enlace (tres para la configuración *sin* y tres para la configuración *anti*), cuatro de ellos poseen un conjunto de valores de constantes de acoplamiento diferentes (conformeros **I**, **III**, **IV** y **VI**), representados con etiquetas de color verde. Mientras que dos rotámeros poseen un conjunto de constantes de acoplamiento iguales (conformeros **II** y **V**), representados con etiquetas de color naranja, por lo que son indistinguibles y por lo tanto no se podría deducir su estereoquímica a partir únicamente de dichos valores (Esquema 100). Normalmente estos dos conformeros, que poseen los protones vecinales H-2 y H-3 en disposición *antiperiplanar*, se pueden diferenciar fácilmente mediante una información espacial adicional, como puede ser la extraída de un experimento NOE. Sin embargo, en algunos casos, debido a la no disponibilidad de datos NOE concluyentes, no se puede deducir la estereoquímica relativa.

Cuando al menos alguno de valores de las $^3J(\text{H,H})$, $^3J(\text{C,H})$ y/o $^2J(\text{C,H})$ presenta un valor mediano (**M**), estamos ante la presencia de una interconversión rápida entre dos o más conformeros alternados en lugar de una conformación predominante. Se pueden dar dos casos:

- Un equilibrio conformacional entre dos de los tres rotámeros posibles. Como se representa en el Esquema 100, sólo son distinguibles los equilibrios entre el rotámero con disposición *antiperiplanar* (A) y alguno de los rotámeros con disposición *sinclinal* (S^+) o (S^-) de las configuraciones *sin* y *anti* (etiquetas de color amarillo). Sin embargo, los equilibrios entre el rotámero con disposición *sinclinal* (+) y *sinclinal* (-) de ambas configuraciones, señalados como etiquetas de color naranja, no se pueden distinguir.
- Un equilibrio conformacional de los tres rotámeros posibles. En este caso los valores de todas las constantes de acoplamiento son medianos (etiquetas de color rojo en el Esquema 100), por lo que es imposible determinar la configuración relativa.

Para un mejor estudio y debido a que las etiquetas no serán las mismas, hay que distinguir entre dos tipos de sistemas, aquéllos en los que está presente un sólo heteroátomo, a los que denominaremos sistemas **(a)**, y aquéllos que presentan dos heteroátomos en las posiciones 2 y 3, a los que denominaremos sistemas **(b)** representados en el Esquema 100.



Esquema 100. Fundamentos de la metodología de Murata o análisis basado en las constantes de acoplamiento.

Con el fin de reconocer el comportamiento de estos sistemas, los clasificaremos de dos maneras distintas:

- **Sistemas que se ajustan a la metodología de Murata: Sistemas Murata**

Se denominarán como sistemas Murata aquéllos que cumplen la metodología original y en los que haya o bien un sólo confórmero (etiquetas verdes), o bien un equilibrio entre dos rotámeros que se pueden distinguir (etiquetas amarillas). En estos sistemas, la estereoquímica relativa puede ser determinada claramente por dicha metodología.

- **Sistemas que no se ajustan a la metodología de Murata: Sistemas No-Murata**

Aquellos sistemas en los que la configuración *sin* o *anti* no pueda ser discernida porque el conjunto de valores tienen la misma etiqueta (naranjas en el Esquema 100) y no se puedan distinguir mediante NOE, o en los que estén presentes los tres rotámeros en equilibrio (etiquetas rojas), se denominarán como sistemas No-Murata ya que la estereoquímica relativa no puede ser determinada por esta metodología.

1.2.1. Aplicación de la metodología de Murata a modelos quirales con átomos de oxígeno y nitrógeno en disposición relativa 1,2,3

La metodología de Murata se puede aplicar a sistemas 1,2,3-quirales con átomos de oxígeno y nitrógeno, tales como los de la Figura 70.

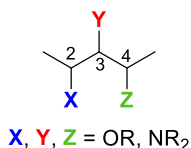


Figura 70. Sistemas 1,2,3 quirales con átomos de oxígeno y nitrógeno.

La aplicación de esta metodología en torno a los enlaces C2—C3 y C3—C4, permitirá determinar la disposición relativa de cada uno de los sustituyentes en dichos enlaces. Al igual que en el análisis de los sistemas 1,3-disustituídos, la conexión de los dos fragmentos, dará la disposición relativa de los tres sustituyentes en el espacio.

1.3. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (VT-JCBA) en sistemas flexibles

Para resolver aquellos sistemas que no cumplen la metodología de Murata y que presentan etiquetas naranjas o rojas en el Esquema 100, nuestro grupo de investigación ha desarrollado una metodología basada en la comparación de las medidas de las constantes de acoplamiento a temperatura ambiente con las que se obtendrían aumentando o disminuyendo la temperatura. Esta metodología, que hemos denominado como “análisis configuración la basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (VT-JCBA)”, se describe en profundidad en el trabajo de tesis doctoral de María Blanco Méndez.¹⁹⁶

- En el caso de los sistemas representados con etiquetas naranjas hay que distinguir entre dos situaciones diferentes:

A) Un valor grande (G) para $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$: en este caso está presente un rotámero mayoritario, correspondiente a la disposición *antiperiplanar* (**A**) entre H-2 y H-3, pero el conjunto de las constantes de acoplamiento es el mismo para la configuración *sin* y *anti*

(GPPPG), por lo que si no se disponen de datos NOE o estos no son concluyentes, no sería posible distinguir entre ambas configuraciones (Figura 71).

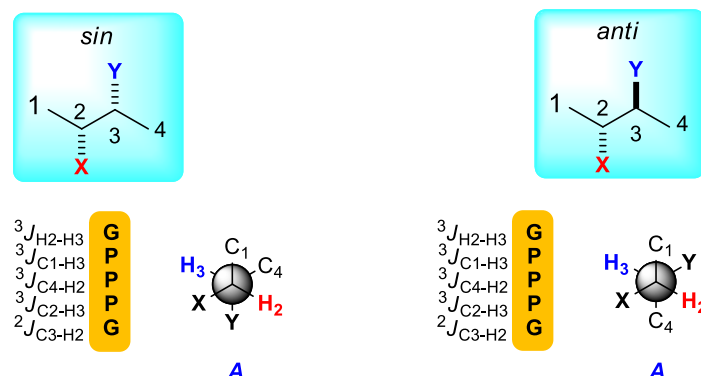


Figura 71.

En estos casos, al realizar los experimentos de RMN a alta temperatura, debería traer consigo la aparición de un segundo confórmero que estaría en equilibrio con el mayoritario a temperatura ambiente, lo que produciría una variación en los valores de las constantes de acoplamiento, que por comparación con los obtenidos a temperatura ambiente, permitiría determinar la disposición entre C-2 y C-3.

B) Un valor pequeño (P) para $^3J(H2,H3)$ y valores medianos (M) para todas las $^2,3J(C,H)$: en este caso existe un equilibrio entre los rotámeros en los que H-2 y H-3 están en disposición *sinclinal*, pero no se puede diferenciar entre la configuración *sin* y *anti* ya que la etiqueta es la misma: PMMMM (Figura 72).

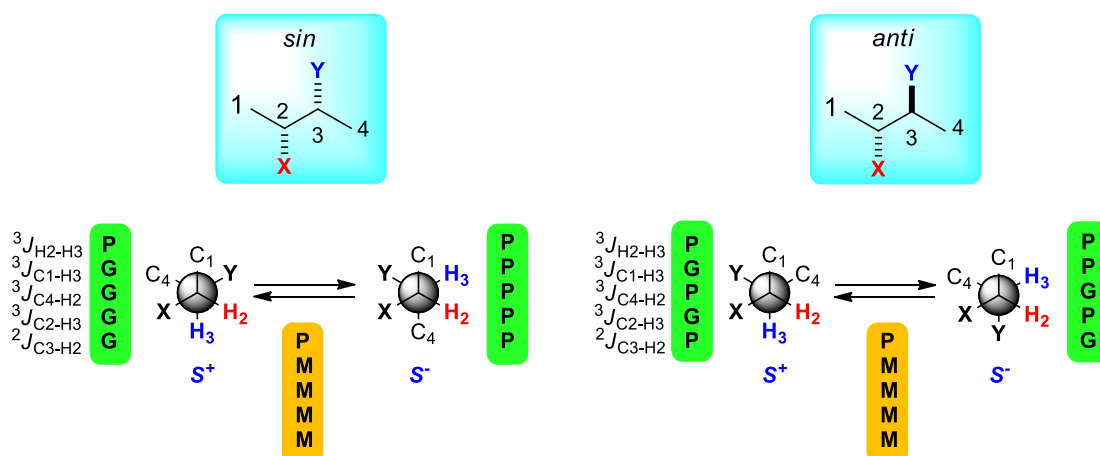


Figura 72.

En estos casos hemos observado que al registrar los datos de RMN a temperaturas más bajas (entre -63 °C y -43 °C) se produce una variación en los valores de las constantes de acoplamiento debido al cambio de la población relativa de los confórmeros en equilibrio hacia el confórmero más estable. Esta modificación de las

constantes de acoplamiento permite deducir qué rotámero es el que empieza a ser predominante en el equilibrio, lo que conlleva a poder determinar la configuración relativa en torno al enlace C2—C3.^{197, 198}

- En el caso de las etiquetas rojas, es decir, cuando el equilibrio se establece entre los tres rotámeros, al igual que en la situación anterior, al realizar los experimentos de RMN a baja temperatura y compararlos con los obtenidos a temperatura ambiente permitiría determinar la estereoquímica relativa del fragmento C—C de estudio.

1.4. Medida experimental de las constantes de acoplamiento

Las constantes de acoplamiento homonucleares $^3J(\text{H,H})$ se pueden medir, en la mayoría de los casos, directamente del espectro de RMN de protón. En los casos en los que hay un gran solapamiento de señales o los multipletes son demasiado complejos que dificultan dichas medidas, se utiliza como alternativa experimentos de irradiación selectiva tipo 1D-TOCSY o experimentos bidimensionales de RMN como el E.COSY.¹⁹⁹

La medida de las constantes de acoplamiento heteronucleares $^{2,3}J(\text{C,H})$ presenta una mayor dificultad por lo que, a pesar de la gran utilidad que podrían aportar, su uso ha sido más limitado. Esta dificultad es debida tanto a la escasa abundancia natural del núcleo del isótopo ^{13}C activo en RMN (un 1.1% con respecto al ^{12}C) así como a su baja sensibilidad (cuatro veces menor que la de ^1H). En este sentido los experimentos bidimensionales de RMN de espectroscopia inversa y el desarrollo de nuevas secuencias de pulsos, en gradiente, han resuelto problemas de sensibilidad pudiéndose obtener las constantes $^{2,3}J(\text{C,H})$ de una forma más exacta y fiable.

Las metodologías para la medición de estas constantes se pueden clasificar en dos grandes tipos: las basadas en secuencias HSQC-TOCSY y las basadas en la secuencia tipo HMBC. Las primeras se utilizan cuando los carbonos están protonados (metilos, metilenos o metino), siendo los denominados HETLOC²⁰⁰ y HSQC-HECADE²⁰¹ los experimentos de este tipo más usados. Por otro lado, se encuentran las secuencias tipo que HMBC permiten obtener dichas medidas para cualquier tipo de carbono, incluidos los cuaternarios, siendo el denominado J -HMBC²⁰² el experimento más importante.

¹⁹⁸ Ardá, A.; Nieto, M.I.; Blanco, M.; Jiménez, C.; Rodríguez, J. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 7227-7232.

¹⁹⁹ Crews, P.; Rodríguez, J.; Jaspars, M. *"Organic Structure Analysis"*, 2ª ed, Oxford University Press, New York, **2010**, p. 181-235.

²⁰⁰ (a) Kurz, M.; Schmieder, P.; Kessler, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1329-1331. (b) Wollborn, U.; Leibfritz, D. *J. Magn. Reson.* **1992**, 98, 142-146.

²⁰¹ (a) Kozminski, W.; Nanz, D. *J. Magn. Reson.* **1997**, 124, 383-392. (b) Kozminski, W.; Nanz, D. *J. Magn. Reson.* **2000**, 142, 294-299. (c) Saurí, J.; Espinosa, J.F.; Parella, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 3919-3922.

²⁰² (a) Zhu, G.; Live, D.; Bax, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 8370-8371. (b) Meissner, A.; Sørensen, O. W. *Magn. Reson. Chem.* **2001**, 39, 49-52.

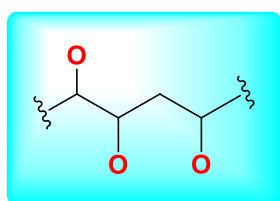
Estos experimentos, HETLOC, HSQC-HECADE y *J*-HMBC, serán los que se utilizarán a lo largo de esta tesis doctoral para realizar las medidas de las constantes de acoplamiento heteronucleares.

2. OBJETIVOS

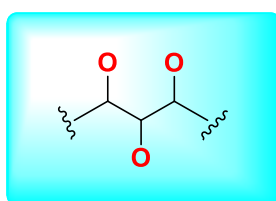
Con el fin de corroborar la metodología del análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (*VT-JCBA*), este capítulo de la presente memoria tiene como objetivo primordial la síntesis de compuestos que contengan los denominados sistemas No-Murata. Es decir, compuestos con centros quirales sobre cadenas acíclicas con átomos de nitrógeno y oxígeno, en los que la estereoquímica relativa de alguno de los sistemas dimetínicos no pueda ser establecida a través de la metodología desarrollada por Murata. Para alcanzar este objetivo general, se proponen los siguientes objetivos concretos:

A) Diseño y síntesis de ocho modelos que posean tres centros asimétricos oxigenados y/o nitrogenados en disposiciones relativas 1,2 y 1,3.

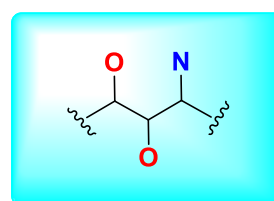
Los modelos diseñados se pueden agrupar en los tres modelos tipo mostrados en la Figura 73.



Modelo tipo 1,2,4-O3



Modelo tipo 1,2,3-O3



Modelo tipo 1,2,3-O2N

Figura 73. Representación genérica de modelos flexibles con átomos de oxígeno y nitrógeno en disposiciones relativas 1,2 y 1,3.

Con el fin de evitar la aparición de interacciones de tipo enlace hidrógeno, que traería consigo la presencia de un rotámero mayoritario, se acetilarán las posiciones oxigenadas y nitrogenadas de los compuestos obtenidos. A partir de la representación genérica de la Figura 73, se propone la síntesis de los siguientes modelos:

I. Modelos tipo 1,2,4-O3: se propone la síntesis de cuatro modelos con tres centros asimétricos oxigenados en relación 1,2,4 (Figura 74).

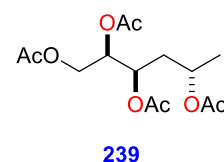
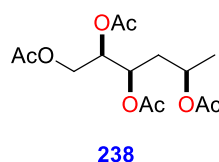
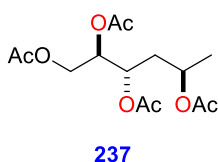
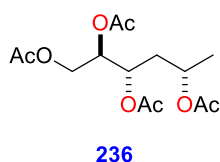


Figura 74. Estructura de los modelos tipo 1,2,4-O3 (236-239).

II. Modelos tipo 1,2,3-O3: se propone la síntesis de dos modelos con tres centros asimétricos oxigenados en relación 1,2,3 (Figura 75).

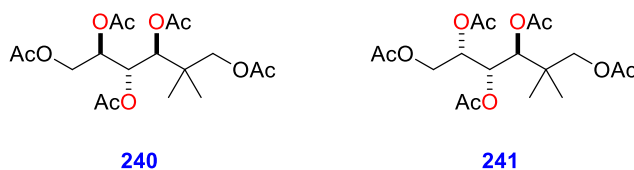


Figura 75. Estructura de los modelos tipo 1,2,3-O3 (**240** y **241**).

III. Modelos tipo 1,2,3-O2N: se propone la síntesis de dos modelos con tres centros asimétricos en relación 1,2,3, en donde uno de ellos lleva un sustituyente nitrogenado (Figura 76).

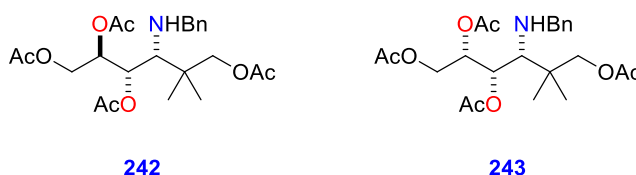


Figura 76. Estructura de los modelos tipo 1,2,3-O2N (**242** y **243**).

B) Obtención de las etiquetas a partir del conjunto de constantes de acoplamiento para todos los enlaces con los centros asimétricos implicados.

Una vez sintetizados los modelos, se pretende obtener el conjunto de $^3J(\text{H,H})$ y $^{2,3}J(\text{C,H})$, que nos daría una determinada etiqueta. Las constantes se obtendrán mediante medidas de RMN utilizando secuencias tipo HSQC-TOCSY y HMBC.

C) Identificación de los modelos que posean enlaces C—C que se correspondan con sistemas No-Murata.

Una vez obtenidas las constantes de acoplamiento, se aplicará el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento (*JBCA*) con el fin de identificar aquellos compuestos que contengan sistemas en los que dicha metodología no permite, *a priori*, distinguir la configuración relativa.

D) Realización de medidas a alta o baja temperatura.

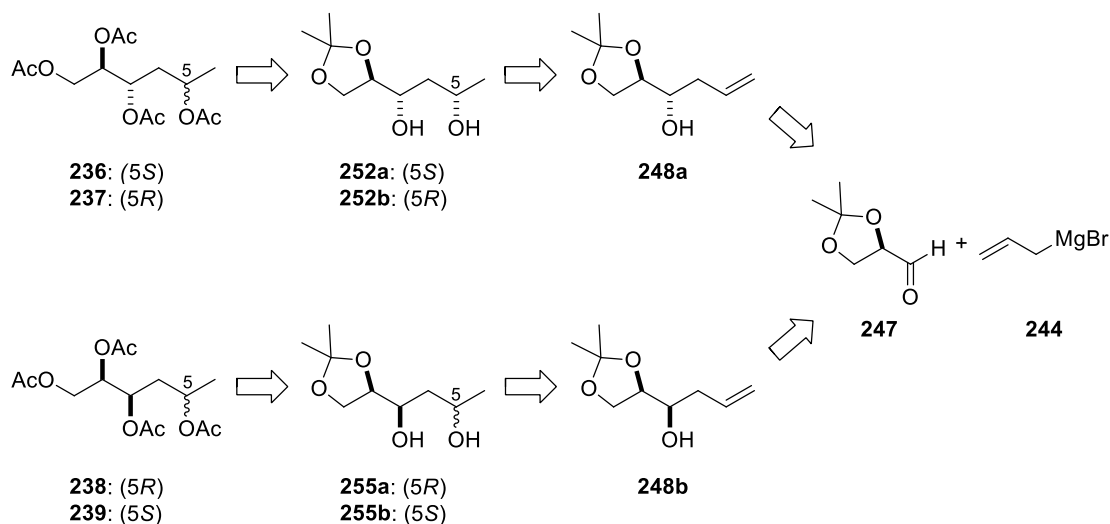
Sobre alguno de los compuestos que contengan sistemas No-Murata, se llevarán a cabo las medidas de las constantes de acoplamiento a diferentes temperaturas con el fin de saber si comparándolas con las obtenidas a temperatura ambiente nos permite deducir la estereoquímica relativa, y por tanto corroborar esta nueva metodología.

3. SÍNTESIS DE MODELOS

Tal y como se describe en los objetivos, en este apartado se propone la síntesis de ocho modelos con tres centros asimétricos de configuración conocida, diseñados para que cada centro quiral presente en la cadena acíclica tenga total libertad de giro y ausencia de interacciones no covalentes tipo enlace de hidrógeno.

3.1. Síntesis de los modelos tipo 1,2,4-O3

En el análisis retrosintético diseñado para los modelos 1,2,3-O3 (**236-239**) se planteó aplicar una estrategia utilizando como intermediarios clave los dioles **252a-b** y **255a-b** que serían fácilmente obtenibles a partir de los alcoholes homoalílicos **248a** y **248b** respectivamente, mediante la estrategia usada por Kishi y col. en la síntesis total de las micolactonas (Esquema 101).²⁰³ Estos compuestos se prepararían a partir del D-gliceraldehído protegido (**247**) y bromuro de alil magnesio (**244**) usando ésteres de tartrato como inductores quirales, siguiendo la estrategia desarrollada por Roush y col.²⁰⁴



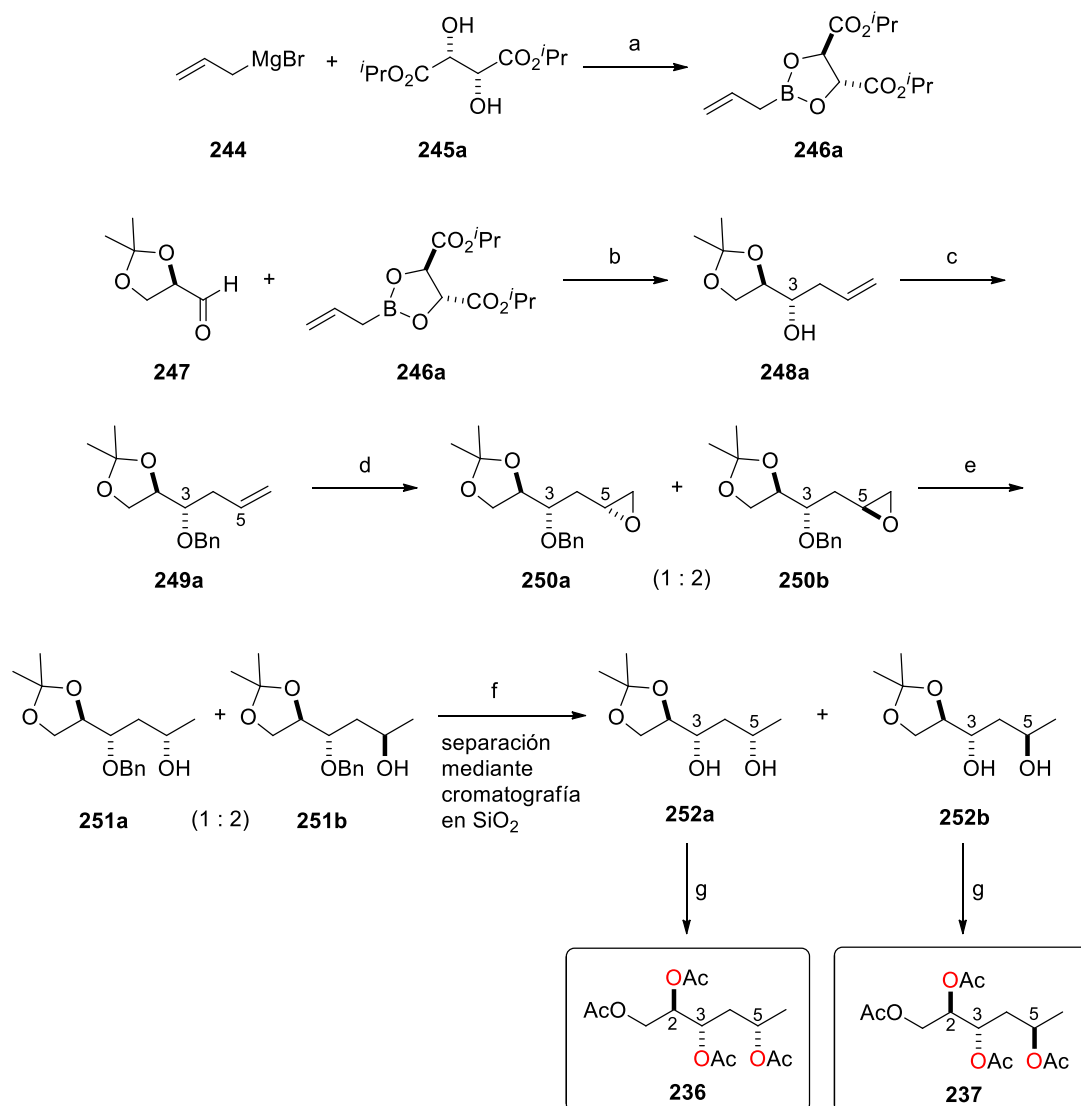
Esquema 101. Análisis retrosintético de los modelos tipo 1,2,4-O3.

3.1.1. Síntesis de los modelos 1,2-*anti*-2,4-*sin*-O3 (**236**) y 1,2-*anti*-2,4-*anti*-O3 (**237**)

La ruta sintética empleada para la obtención de los compuestos **236** y **237** comenzó con la preparación del alilboronato de di-*iso*-propilo **246a** mediante el tratamiento de bromuro de alil magnesio (**244**) con borato de tri-*iso*-propilo y L-(+)-DIPT (**245a**) en Et₂O (Esquema 102).

²⁰³ Fidanze, S.; Song, F.; Szlosek-Pinaud, M.; Small, P. L. C.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10117-10118.

²⁰⁴ (a) Roush, W. R.; Walts, A. E.; Hoong, L. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 8186-8190. (b) Roush, W. R.; Hoong, L. K.; Palmer, M. A. J.; Park, J. C. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4109-4117.



Esquema 102. *Reactivos y condiciones:* (a) B(O^{*i*}Pr)₃, Et₂O, -78 °C (cuantitativo); (b) tolueno, moléculas Sieves, -78 °C (88%); (c) NaH, BnBr, DMF (80%); (d) *m*-CPBA, CH₂Cl₂ (cuantitativo); (e) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78 °C (95%); (f) H₂, Pd/C, EtOH (60%); (g) 1. TFA/H₂O (1:1). 2. Ac₂O, Py, DMAP (60% para **236** y 52% para **237**).

La adición diastereoselectiva del alilboronato **246a** al D-gliceraldehído con sus grupos hidroxilo protegidos (**247**) empleando moléculas Sieves en tolueno a -78 °C, dio lugar al alcohol homoalílico **248a** como único diastereoisómero observable por espectroscopia de RMN, con un rendimiento del 88%. La presencia en el espectro de RMN de ¹H de las señales a δ_H 5.84, 5.16, 2.33 y 2.24 y en el de ¹³C de las señales a 133.9, 118.3 y 31.6 ppm, correspondientes a un grupo alilo, indicaron la introducción del mismo. Por otro lado, el espectro de RMN de ¹H también mostró un doble triplete (*J* = 8.1, 4.5 Hz) a 3.78 ppm, asignado al protón H-3 y el de ¹³C una señal a 70.4 ppm, asignado a C-3, indicando la presencia de un grupo hidroxilo en esa posición, confirmándose por tanto la obtención de **248a**.

La estereoselectividad de esta reacción depende de la configuración del auxiliar quiral empleado y se puede justificar suponiendo un estado de transición silla tipo Zimmerman-Traxler (Figura 77). En el ataque del alilboronato por la cara *Re* del aldehído se establece una repulsión entre los orbitales sp^2 de los átomos de oxígeno carbonílicos que no se produce en el ataque por la cara *Si*, favoreciéndose por tanto, la formación del alcohol con configuración (*S*) cuando se emplea el auxiliar quiral de configuración (*R,R*).²⁰⁴

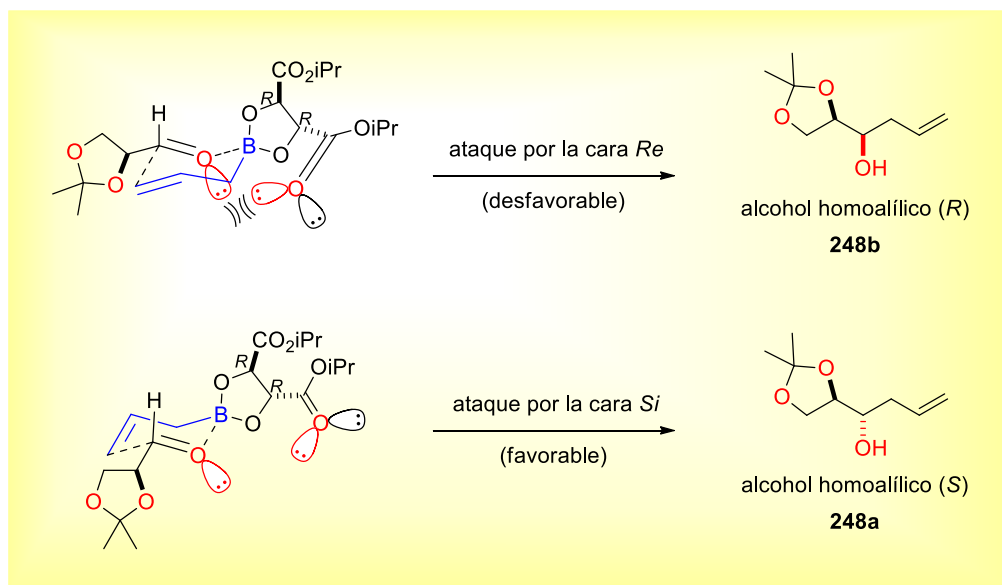


Figura 77. Estados de transición posibles y sus correspondientes productos.

La protección del grupo hidroxilo de **248a** con bromuro de bencilo usando hidruro sódico en DMF, condujo al éter bencílico **249a** con un rendimiento del 80% cuyo espectro de RMN de ^1H mostró un grupo de señales centradas a 7.34 ppm, que se corresponden con los cinco protones aromáticos y una señal a 4.64 ppm que se asignaron a los dos protones bencílicos.

La epoxidación de **249a** con ácido *m*-cloroperbenzoico en CH_2Cl_2 dio lugar a la mezcla de los diastereoisómeros **250a** y **250b** en una relación 1:2 (según se deduce por su espectro de RMN de ^1H) que no pudieron ser separados mediante cromatografía en gel de sílice. Tal y como se muestra en la Figura 78, la minimización de esta estructura mediante mecánica molecular muestra como el epóxido minoritario se produce por la cara donde se encuentra el grupo *O*-bencilo (**250a**), mientras que la epoxidación por la otra cara da lugar al epóxido mayoritario (**250b**).

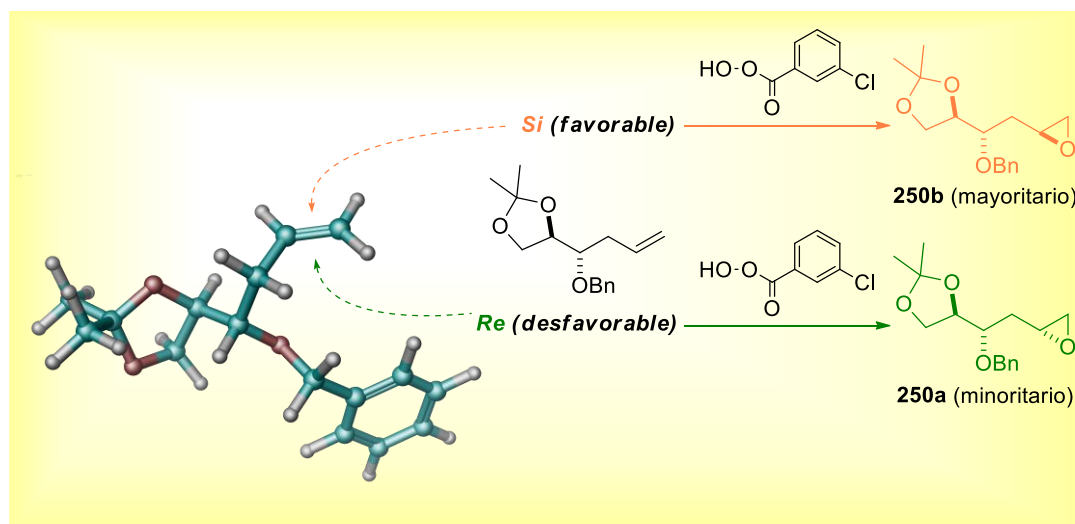


Figura 78. Formación de los epóxidos **250a** y **250b** con *m*-CPBA.

En el espectro de RMN de ^1H de la mezcla de los compuestos **250a** y **250b** se observó la desaparición de las dos señales a 5.93 y 5.15 ppm correspondientes a los protones olefínicos del doble enlace entre las posiciones 4 y 5 de **249a**, y la aparición de un multiplete a 3.11 ppm y cuatro dobles dobletes a 2.80, 2.75, 2.54 y 2.49 ppm correspondientes a los protones H-5 y H-6 de los dos isómeros. La asignación de los epóxidos se realizó empleando los datos recogidos en la bibliografía.²⁰³ En el epóxido **250a** (configuración *sin*) el desplazamiento químico de los protones H-6 aparecen a menor frecuencia (2.75 y 2.49 ppm) respecto al epóxido **250b** (configuración *anti*) en el que resuenan a 2.80 y 2.54 ppm.

La apertura de la mezcla de epóxidos **250a-b** con hidruro de di-*iso*-butilaluminio en CH_2Cl_2 a -78°C , permitió obtener, con un rendimiento del 95%, los alcoholes **251a-b** como una mezcla de diastereoisómeros en relación 1:2, que resultaron ser inseparables por cromatografía en gel de sílice. En su espectro de RMN de ^1H se observó el desplazamiento químico a mayor frecuencia (en torno a 4 ppm) de la señal del protón H-5, y el desplazamiento a menor frecuencia de las señales de los protones H-6 que resonaban como cuatro dobles dobletes a 2.80, 2.75, 2.54 y 2.49 ppm en **250a-b**, resonando en **251a-b** como dos dobletes a 1.20 y 1.16 ppm. Además su espectro de RMN de ^{13}C mostró la presencia del grupo metilo de la posición C-6 al aparecer dos señales a 23.9 y 23.5 ppm, y la presencia del carbono C-5 hidroxilado al mostrar dos señales a 66.4 y 64.7 ppm.

La hidrogenación catalítica de la mezcla de los isómeros **251a** y **251b** con paladio/carbón en etanol, condujo a los dioles **252a** y **252b** que, esta vez pudieron ser separados mediante cromatografía en gel de sílice. La estereoquímica de **252a** y **252b**

fue deducida por comparación de los datos de RMN recogidos en la bibliografía para estos compuestos.²⁰³

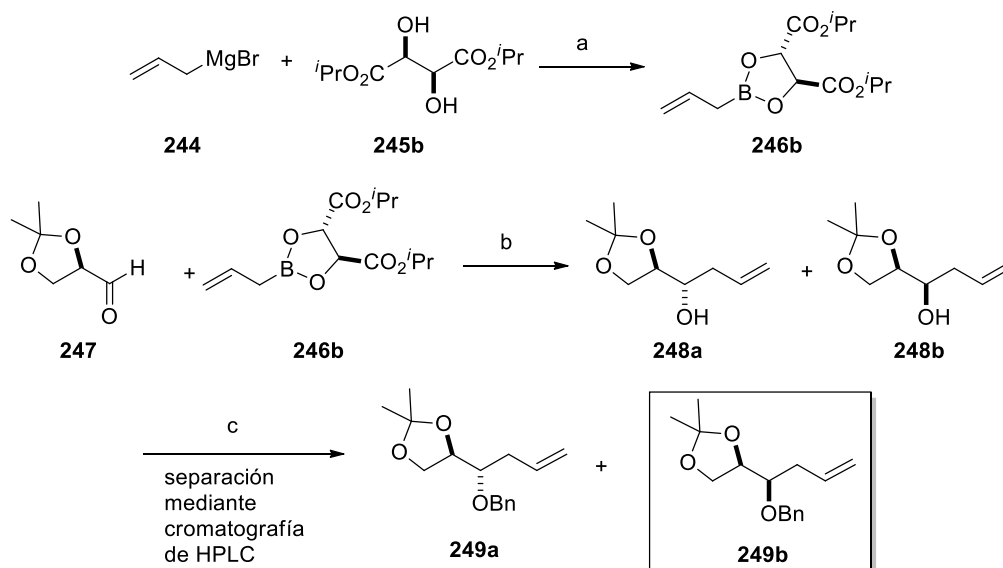
La eliminación del grupo protector isopropilidenilo de **252a** con ácido trifluoroacético al 50% en agua y el posterior tratamiento del tetraol resultante con anhídrido acético y piridina (2:1) en presencia de DMAP, rindió el compuesto tetraacetilado deseado **236** en un 60% de rendimiento para las dos etapas. Su espectro de RMN de ^1H mostró la desaparición de los dos singuletes a 1.42 y 1.36 ppm, correspondientes a los dos metilos del grupo isopropilidenilo, confirmando la eliminación del mismo. También se observó el desplazamiento de las tres señales de los protones a H-3, H-2 y H-5 a más frecuencia, apareciendo a 5.19, 5.13 y 4.94 ppm respectivamente, junto con cuatro singuletes a 2.07, 2.06, 2.05 y 2.02 ppm, correspondientes a los cuatro grupos acetato. El espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia de los cuatro grupos acetato al observarse los carbonilos a δ_{C} 170.6, 170.3, 170.1 y 170.0 y cuatro metilos a 21.4, 20.9, 20.8 y 20.7 ppm. Adicionalmente, el espectro (+)-ESIMS de alta resolución corroboró la estructura de **236** al mostrar los iones $[\text{M}+\text{H}]^+$ y $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 319.1398 y 341.1197, respectivamente (masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}_8$: 319.1387 y masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$: 341.1206).

Por otro lado, el tratamiento del isómero **252b** en las mismas condiciones que **252a**, condujo al compuesto **237** con un rendimiento del 52%. Su espectro de RMN de ^1H en tolueno deuterado (C_7D_8) mostró la desaparición de los dos singuletes a 1.42 y 1.36 ppm, confirmando la eliminación del grupo isopropilidenilo, y la aparición de cuatro singuletes a 1.79, 1.77, 1.74 y 1.71 ppm, correspondientes a los cuatro metilos de los grupos acetato. También se observó el desplazamiento de las tres señales de los protones H-3, H-2 y H-5 a más frecuencia, apareciendo a 5.41, 5.24 y 5.00 ppm, respectivamente. El espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia de los cuatro grupos acetato al observarse los carbonilos a δ_{C} 170.0, 169.9, 169.8 y 169.7 y sus correspondientes metilos a 20.5, 20.4, 20.3 y 20.2 ppm. Su espectro (+)-HR-ESIMS mostró el ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 341.1210 (masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$: 341.1206), confirmando la obtención de este compuesto.

Tras ocho etapas de síntesis, se obtuvieron los modelos 1,2-*anti*-2,4-*sin*-O3 (**236**) y 1,2-*anti*-2,4-*anti*-O3 (**237**) a partir del D-gliceraldehído 2,3-protegido (**247**) con rendimientos globales del 25% y del 21%, respectivamente.

3.1.2. Síntesis de los modelos 1,2-*sin*-2,4-*sin*-O3 (**238**) y 1,2-*sin*-2,4-*anti*-O3 (**239**)

La síntesis del otro par de diastereoisómeros **238** y **239** se llevó a cabo usando la misma metodología que en el caso de los compuestos **236** y **237** descritos anteriormente (Esquema 103).



Esquema 103. *Reactivos y condiciones:* $B(O^iPr)_3$, Et_2O , $-78\text{ }^{\circ}C$ (cuantitativo); (b) tolueno, moléculas Sieves, $-78\text{ }^{\circ}C$ (78%); (c) NaH, BnBr, DMF (55% para **249b** y 87% global).

Desafortunadamente, al realizar la adición del alilboronato **246b** (derivado del D-(-)-DIPT) al aldehído quiral **247**, la diastereoselectividad no fue tan elevada como la conseguida al usar su enantiómero (compuesto **246a**), obteniéndose una mezcla de los diastereoisómeros inseparables **248a** y **248b** en una proporción 1:2, tal y como se deduce de su espectro de RMN de 1H .

Como hemos visto, la estereoselectividad de esta reacción depende de la configuración del auxiliar quiral. En este caso, la utilización del auxiliar quiral de configuración (*S,S*) favorece la formación del alcohol con configuración (*R*) ya que el ataque del alilboronato por la cara *Si* del aldehído está desfavorecido debido a las repulsiones electrónicas de los orbitales sp^2 de los átomos de oxígeno carbonílicos que no se producen en el ataque por la cara *Re* (Figura 79).

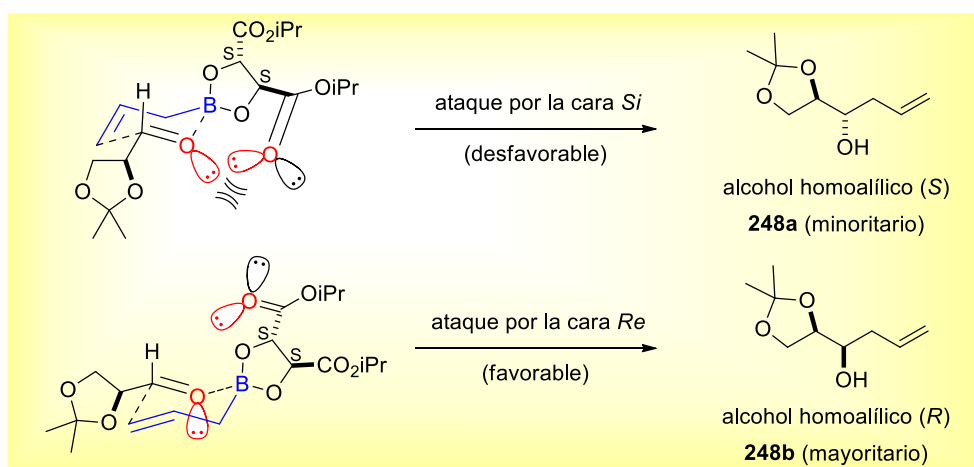


Figura 79. Estados de transición posibles en la adición del alilboronato **246b** al aldehído **247** y sus correspondientes productos.

La protección del grupo hidroxilo de la mezcla de los compuestos **248a** y **248b**, en las mismas condiciones que las usadas sobre el alcohol homoalílico **248a**, dio lugar a los diastereoisómeros **249a** y **249b** en una relación 1:2 después de ser purificados y aislados por cromatografía de HPLC en fase reversa usando como fase móvil MeOH al 20% en H₂O. En la Figura 80 se muestra el cromatograma de HPLC del crudo de reacción que muestra una relación 1:2 entre **249a** y **249b**.

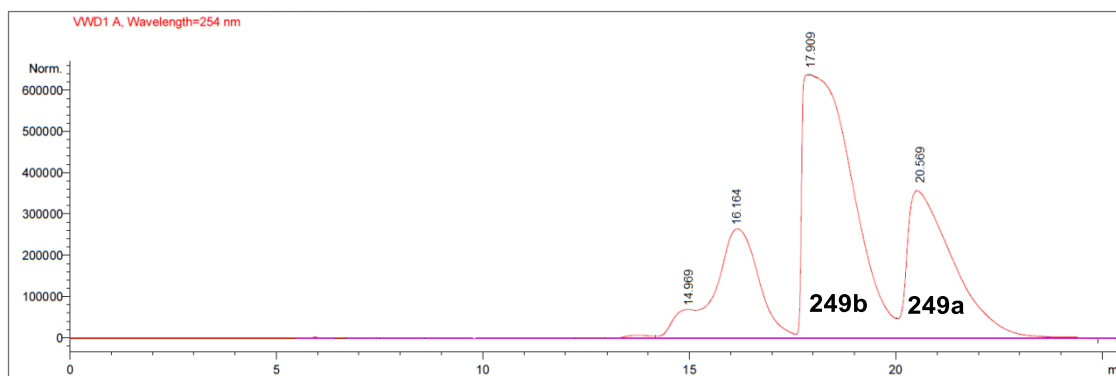
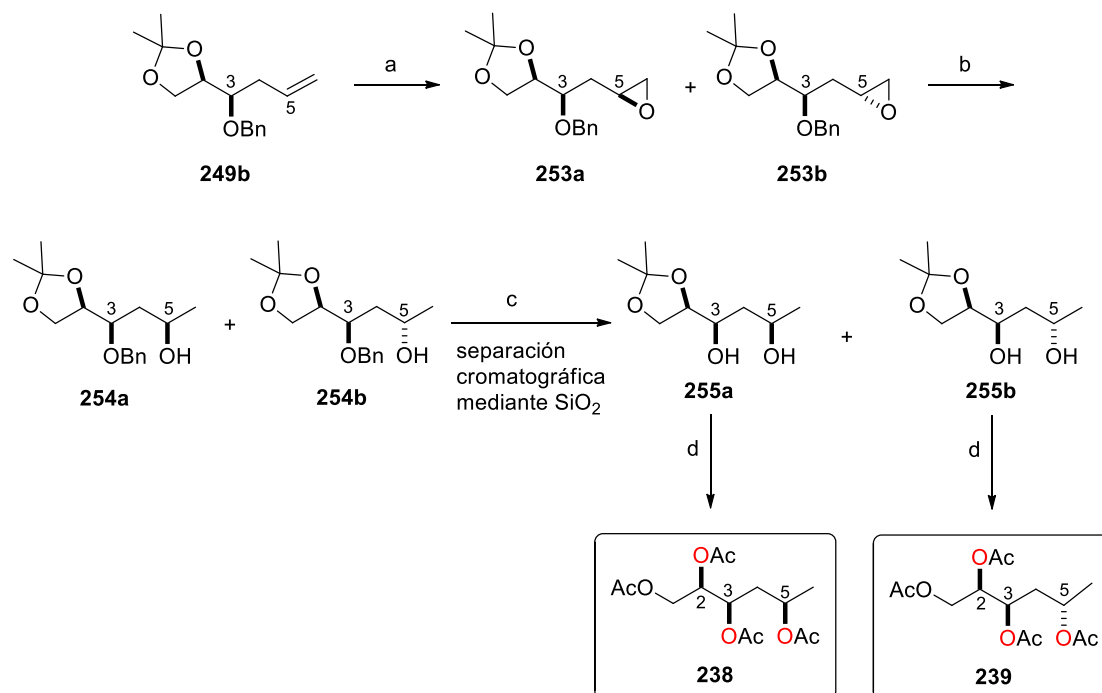


Figura 80. Cromatograma de HPLC de la separación de los diastereoisómeros **249a** ($t_R = 20.60$ min) y **249b** ($t_R = 17.91$ min) a $\lambda = 254$ nm.

La ruta sintética continuó con la aplicación de las etapas (c) – (f) del Esquema 103 sobre el alqueno **249b** para llegar a los tetraoles acetilados requeridos **238** y **239** (Esquema 104).



Esquema 104. Reactivos y condiciones: (a) *m*-CPBA, CH₂Cl₂ (94%); (b) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78 °C (99%); (c) H₂, Pd/C, EtOH (66%); (d) 1. TFA/H₂O (1:1). 2. Ac₂O, Py, DMAP (79% para **238** y 74% para **239**).

La epoxidación del doble enlace de **249b** usando las mismas condiciones que para la obtención de **250**, condujo a la mezcla de los diastereoisómeros que no pudieron ser separados por cromatografía en gel de sílice **253a** y **253b** en relación 1:2, con un rendimiento del 94%. En el espectro de RMN de ^1H se observó la desaparición de las señales a 5.87 y 5.15 ppm, correspondientes a los protones del doble enlace de **249b**, y la aparición de los dobles dobletes característicos de un grupo epóxido. La estereoquímica de estos compuestos fue deducida por comparación de sus datos de RMN de ^1H con los recogidos en la bibliografía para estos compuestos.²⁰³ En el epóxido **253a** (configuración *sin*) el desplazamiento químico de los protones H-6 aparecen a menos frecuencia (2.73 y 2.46 ppm) respecto al epóxido **253b** (disposición *anti*) en el que resuenan a 2.81 y 2.52 ppm.

La apertura de la mezcla de epóxidos y posterior eliminación del grupo bencilo, usando las mismas condiciones que para los alcoholes **252a** y **252b**, condujo a los dioles **255a** y **255b** que fueron separados fácilmente por cromatografía en gel de sílice. El desplazamiento a mayor frecuencia en los espectros de RMN de ^1H de **255a-b** de las señales correspondientes a los protones H-5 y H-3, confirmó por un lado la reducción del epóxido y, por otro, la desprotección del alcohol. La asignación de los dioles **255a**, que presenta los hidroxilos en *sin*, y **255b**, donde los hidroxilos se encuentran en disposición *anti*, se realizó por comparación con los datos de RMN recogidos en la bibliografía.²⁰³

Finalmente, la desprotección del 1,2-diol de **255a-b** y posterior acetilación del tetraol resultante, usando las mismas condiciones que para la obtención de **236**, condujo a los modelos 1,2-*sin*-2,4-*sin*-O3 (**238**) y 1,2-*sin*-2,4-*anti*-O3 (**239**), respectivamente.

El espectro de RMN de ^1H de **238** mostró la desaparición de los dos singuletes a 1.43 y 1.35 ppm en **255a**, correspondientes a los dos metilos del grupo isopropilidenilo, confirmando la eliminación del mismo, y la aparición de cuatro singuletes a 2.11, 2.09, 2.05 y 2.03 ppm, correspondientes a los cuatro metilos de los grupos acetato, confirmando la acetilación de todos los OH. El espectro de RMN de ^{13}C confirmó la presencia de los cuatro grupos acetato al observarse cuatro carbonilos a δ_{C} 170.4, 170.3, 170.1 y 170.0 ppm y los cuatro metilos a 21.2, 20.8, 20.7 y 20.6 ppm. Además, su espectro de masas (+)-ESI de alta resolución mostró el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ esperado a m/z 341.1197 (masa calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$: 341.1206).

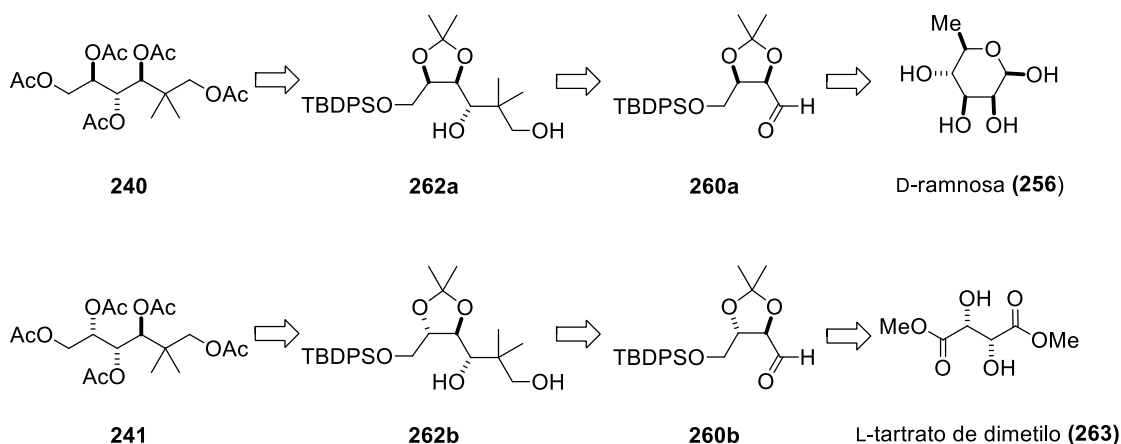
Por otro lado, el espectro de RMN de ^1H de **239** también confirmó su estructura al observarse los desplazamientos de las señales de los protones H-3, H-2 y H-5 a más frecuencia (5.24, 5.16 y 4.85 ppm, respectivamente) y la aparición de cuatro singuletes en torno a 2 ppm, correspondientes a los metilos de los cuatro grupos acetatos. Su

espectro (+)-HR-ESIMS mostró el ión $[M+Na]^+$ a m/z 341.1204 (masa calculada para $C_{14}H_{22}O_8Na$: 341.1206), confirmando la obtención de este compuesto.

Después de siete etapas sintéticas a partir del D-gliceraldehído 2,3-protegido (**247**), se obtuvieron los modelos 1,2-*sin*-2,4-*sin*-O3 (**238**) y 1,2-*sin*-2,4-*anti*-O3 (**239**) con rendimientos globales del 21% y del 20%, respectivamente.

3.2. Síntesis de los modelos tipo 1,2,3-O3

Como se muestra en el Esquema 105, a partir de D-ramnosa (**256**) y L-tartrato de dimetilo (**263**), se generarán dos diastereoisómeros (**260a** y **260b**, respectivamente) cuyo tratamiento con el correspondiente α -bromoéster en presencia de indio metal, permitirán obtener de una manera estereocontrolada los alcoholes **262a** y **262b** que se convertirán fácilmente en los modelos *anti/anti*-O3 (**240**) y *sin/anti*-O3 (**241**), con todos los grupos hidroxilo protegidos como acetatos.



Esquema 105. Análisis retrosintético de los modelos tipo 1,2,3-O3.

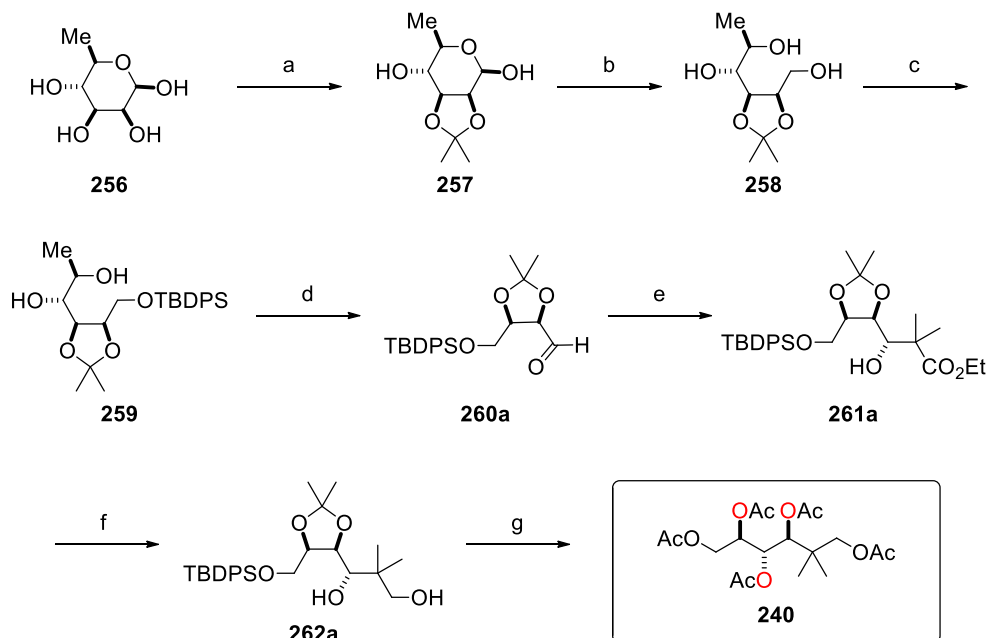
3.2.1. Síntesis del modelo 1,2-*anti*-2,3-*anti*-O3 (**240**)

La ruta sintética propuesta para este modelo es la que se muestra en el Esquema 106. Partiendo de D-ramnosa comercial (**256**) se protegió el 1,2-diol como un acetónido con 2-metoxipropeno y CSA en acetona, para obtener **257** con un 93% de rendimiento. La presencia en su espectro de RMN de 1H de los singuletes a 1.49 y 1.35 ppm, correspondientes a los metilos del grupo isopropilidenilo, confirmó la obtención del producto.

La reducción de la aldosa **257** con borohidruro sódico en H_2O a temperatura ambiente,²⁰⁵ condujo al alditol **258** con un rendimiento del 80%, cuyo espectro de RMN de 1H indicó la reducción a alcohol al mostrar la desaparición del doblete ($J = 2.4$ Hz) a 5.43 ppm, y la aparición de las señales a 3.82 y 3.58 ppm, correspondientes a los

²⁰⁵ Han, Chung H. Anda Sillerud, Laurel O. *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 236-264.

protones diastereotópicos H-1. Su espectro de RMN de ^{13}C también confirmó la reducción en la posición C-1 al observarse la desaparición de la señal a δ_{C} 100.9, correspondiente al carbono anomérico presente en **257** y la aparición de una señal a 61.2 ppm en **258**.



Esquema 106. *Reactivos y condiciones:* (a) 2-metoxipropeno, CSA, acetona (93%); (b) NaBH_4 , H_2O (80%); (c) TBDPSCl, Imid., DMF, (93%); (d) NaIO_4 , EtOH/ H_2O 9:1 (cuantitativo); (e) 2-bromo-isobutirato de etilo, In, THF,)) (66%); (f) LiAlH_4 , Et_2O , 45 °C (cuantitativo); (g) 1. TFA/ H_2O 1:1. 2. Ac_2O , Py, DMAP (45% para los dos pasos).

La protección quimioselectiva del alcohol primario de **258** con cloruro de *tert*-butildifenilsililo empleando imidazol en DMF a -20 °C,²⁰⁶ proporcionó **259** con un rendimiento del 91%. Su estructura se identificó fácilmente por su espectro de RMN de ^1H , al observarse la aparición de las señales a 7.64 ppm y 1.09 ppm correspondientes a los grupos fenilo y *tert*-butilo, respectivamente.

La ruptura oxidativa del 1,2-diol **259** con peryodato sódico en EtOH/ H_2O (9:1),²⁰⁷ rindió el aldehído **260a** de forma cuantitativa. La desaparición en su espectro de RMN de ^1H del multiplete a 4.05 ppm presente en **259** y la aparición de un singulete a 9.90 ppm, confirmó la presencia del grupo aldehído. La obtención de **260a** también se confirmó por RMN de ^{13}C al mostrar la presencia del carbono del aldehído a 200.5 ppm.

La adición de 2-bromoisobutirato de etilo al aldehído **260a** en presencia de indio metal en THF mediante ultrasonidos,²⁰⁸ condujo al β -hidroxiéster **261a** con una elevada

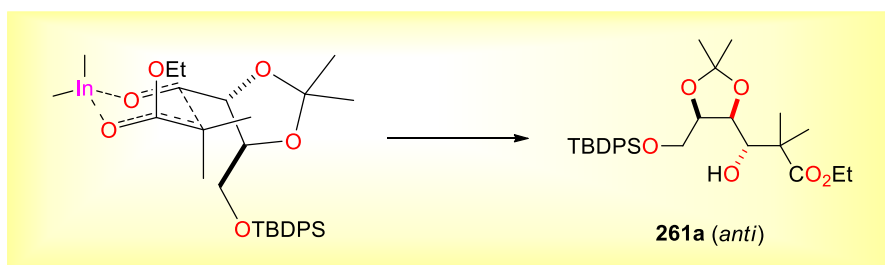
²⁰⁶ Hashizume, Y. *Synlett*, **1998**, 12, 1357-1358.

²⁰⁷ Van Brabant, W.; Vanwalleghem, M.; D'hooghe, M.; De Kimpe, N. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 7083-7086.

²⁰⁸ (a) Soengas, R. G. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2249-2253. (b) Soengas, R. G. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 105-108.

diastereoselectividad. Su estructura se elucidó por espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C observándose la desaparición en su espectro de RMN de ^1H del doblete ($J = 0.9$ Hz) a 9.90 ppm en **260a** y la aparición del multiplete a δ_{H} 4.31, confirmando la presencia de un grupo hidroxilo. Además, la aparición de un cuadruplete ($J = 7.1$ Hz) a 4.11 ppm y de un triplete ($J = 7.1$ Hz) a 1.23 ppm, confirmaron la presencia del grupo etilo. Por otro lado, su espectro de RMN de ^{13}C mostró la desaparición del carbono sp^2 a 200.5 ppm presente en **260a** y la aparición de un carbono sp^3 a 71.9 ppm, junto con un carbono sp^2 a 176.7 ppm, indicando la presencia de un grupo hidroxilo y éster, respectivamente. Su espectro (+)-ESIMS de alta resolución mostró el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 515.2815 (masa calculada para $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{O}_6\text{Si}$: 515.2823), confirmando la obtención del producto.

En cuanto a la estereoquímica de **261a**, siguiendo el trabajo de Qing y col.,^{209a} la elevada diastereoselectividad conseguida en la formación del isómero *anti*, se puede explicar considerando un estado de transición de seis miembros^{209b} que se forma al quelatarse el indio. La quiralidad del aldehído **260a** por sí misma bloquearía la cara *Re*, así el enolato de indio debería atacar preferentemente por la cara *Si*. Además, la estructura del grupo isopropilidenilo favorece la disposición pseudoecuatorial debida a su gran voluminosidad. Todos estos factores provocan que se forme principalmente el estado de transición mostrado en el Esquema 107, lo que conduce a que el producto mayoritario sea el isómero *anti* **261a**.



Esquema 107. Estado de transición propuesto para explicar la diastereoselectividad en la formación del isómero *anti*.

La reducción del éster etílico **261a** con hidruro de litio y aluminio en éter a reflujo,²¹⁰ condujo al correspondiente alcohol **262b** de forma cuantitativa. Su espectro de RMN de ^1H mostró la reducción del éster por la desaparición de las señales del grupo etilo (4.11 y 1.23 ppm) y la aparición de la señal a 3.55 ppm correspondiente a los protones H-6.

La desprotección final de los tres grupos hidroxilo de **262a** y posterior acetilación del pentaol resultante, condujo al compuesto **240**, que se corresponde con el modelo

²⁰⁹ (a) Chen, Q.; Qiu, X. L.; Qing, F. L. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3762-3767. (b) Aslam, N. A.; Rajkumar, V.; Reddy, C.; Yasuda, M.; Baba, A.; Babu, S. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 4395-4411.

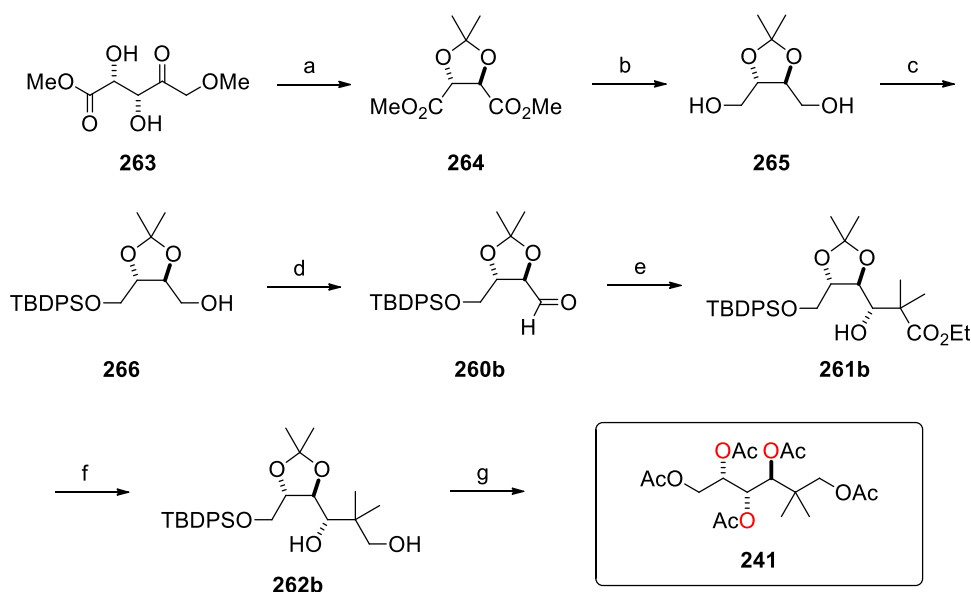
²¹⁰ Brown, H. C.; Yoon, N. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 1464-1472.

deseado 1,2-*anti*-2,3-*anti*-O3. El espectro de RMN de ^1H confirmó su estructura al observarse el desplazamiento de las tres señales de los protones H-3, H-2 y H-5 a más frecuencia, apareciendo a 5.44, 5.28 y 5.12 ppm, respectivamente, junto con cinco singuletes a 2.14, 2.07, 2.06, 2.05 y 2.04 ppm, correspondientes a cinco grupos acetato. El espectro de RMN de ^{13}C también confirmó la presencia de los cinco grupos acetato al observarse los carbonilos a δ_{C} 170.9, 170.6, 170.2, 169.8 y 169.6 y cinco metilos a 21.3, 20.9, 20.8, 20.7 y 20.6 ppm. El espectro (+)-ESIMS de alta resolución confirmó la obtención del producto al mostrar los iones $[\text{M}+\text{H}]^+$ y $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 405.1748 y 427.1562, respectivamente.

Tras ocho etapas sintéticas a partir de ramnosa natural (**256**), se obtuvo el modelo 1,2-*anti*-2,3-*anti*-O3 (**240**) con un rendimiento global del 21%.

3.2.2. Síntesis del modelo 1,2-*sin*-2,3-*anti*-O3 (**241**)

Como se muestra el Esquema 108, partiendo de L-tartrato de dimetilo (**263**), una ruta similar a la anterior fue llevada a cabo para conseguir el modelo 1,2-*sin*-2,3-*anti*-O3 correspondiente.



Esquema 108. Reactivos y condiciones: (a) 2,2-dimetoxipropano, *p*-TsOH, MeOH/hexano (85%); (b) LiAlH_4 , Et_2O , 45 °C (65%); (c) NaH, TBDPSCI, THF (73%); (d) DMP, CH_2Cl_2 (cuantitativo); (e) 2-bromoisobutirato de etilo, In, THF,)) (62%); (f) LiAlH_4 , Et_2O , 45 °C (cuantitativo); (g) 1.TFA/ H_2O 1:1. 2. Ac_2O , Py, DMAP (46% para los dos pasos).

La ruta sintética comenzó siguiendo la metodología desarrollada por Hemperly y col. para obtener el diol **265**.²¹¹ De este modo la protección del 1,2-diol del L-tartrato de dimetilo utilizando 2,2-dimetoxipropano y *p*-TsOH en MeOH/ H_2O dio lugar al diéster **264**

²¹¹ Mash, E. A.; Nelson, K. A.; Van Deusen, S.; Hemperly, S. B. *Org. Synth.* **1990**, 68, 92-98.

en un 85% de rendimiento, sobre el que se realizó la reducción con LiAlH_4 en Et_2O a 45 °C para dar el diol **265** en un 70% de rendimiento. A continuación la protección selectiva del alcohol **265** empleando la aproximación sintética descrita por Chelucci y col. rindió el sililéter **266** con un rendimiento del 73%, cuyos datos espectroscópicos coincidieron con los descritos para este compuesto.²¹²

La oxidación del alcohol **266** con el reactivo peryodinano de Dess-Martin en CH_2Cl_2 ,²¹³ dio lugar al aldehído **260b**, cuya adición diastereoselectiva de 2-bromoisobutirato de etilo en presencia de indio metal usando las mismas condiciones descritas anteriormente, condujo al β -hidroxiéster **261b** como único diastereoisómero observable por RMN de ^1H . En el espectro de RMN de ^1H de **260b** se observó la aparición de una señal a 9.79 ppm, correspondiente al protón del aldehído, y en el de **261b** se observó la desaparición de esta señal y la aparición de un multiplete a 4.13 ppm, confirmando la presencia del grupo hidroxilo. Adicionalmente, el espectro de RMN de ^{13}C de **261b** confirmó la presencia del grupo éster por la señal a 177.2 ppm.

La reducción del grupo éster de **261b** empleando la misma metodología que para su diastereoisómero **261a**, condujo a **262b** cuya desprotección del 1,2-diol y posterior acetilación condujo al modelo 1,2-*sin*-2,3-*anti*-O3 (**241**).

El espectro de RMN de ^1H de **241** mostró el desplazamiento de las señales correspondientes a los protones H-3, H-2 y H-4 a más frecuencia, apareciendo a 5.51, 5.33 y 5.16 ppm, respectivamente, junto con cinco singuletes a 2.14, 2.09, 2.07, 2.04 y 2.03 ppm, asignadas a cinco grupos acetato. El espectro de RMN de ^{13}C también confirmó la presencia de los cinco grupos acetato al observarse cinco carbonilos a δ_{C} 171.0, 170.5, 170.1, 169.9 y 169.9 ppm y cinco metilos a 21.6, 21.0, 20.9, 20.8 y 20.7 ppm. Su espectro (+)-HRESIMS mostró el ión $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 427.1562 (masa calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{Na}$: 427.1574), confirmando la obtención de este compuesto.

La síntesis del modelo 1,2-*sin*-2,3-*anti*-O3 (**241**) se completó en ocho etapas a partir de L-tartrato de metilo (**263**) con un rendimiento global del 12%.

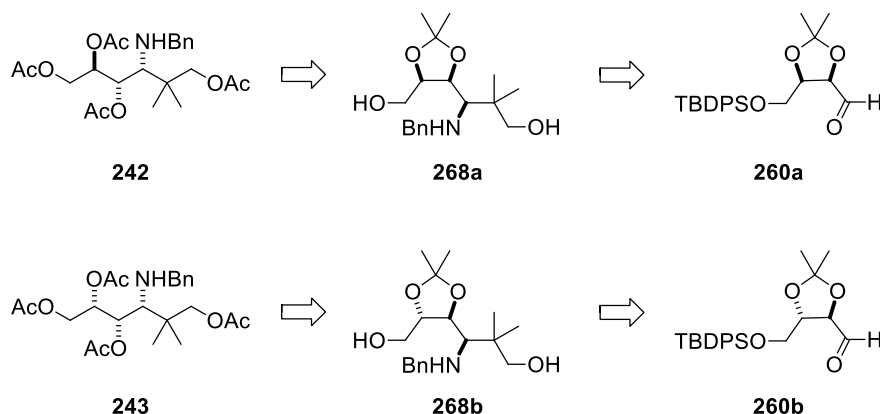
3.3. Síntesis de los modelos tipo 1,2,3-O₂N

En el análisis retrosintético diseñado para los dos modelos nitrogenados **242** y **243** (Esquema 109), se planteó partir de los aldehídos **260a** y **260b**, ya obtenidos para los modelos 1,2,3-O3 (Esquemas 106 y 108). El tratamiento de dichos aldehídos con bencilamina conduciría a las correspondientes iminas cuya adición al adecuado α -bromoéster en presencia de indio metal, permitirían obtener de una manera

²¹² Chelucci, G.; Cabras, M. A.; Botteghi, C.; Basoli, C.; Marchetti, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 885-895.

²¹³ Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 4155-4156.

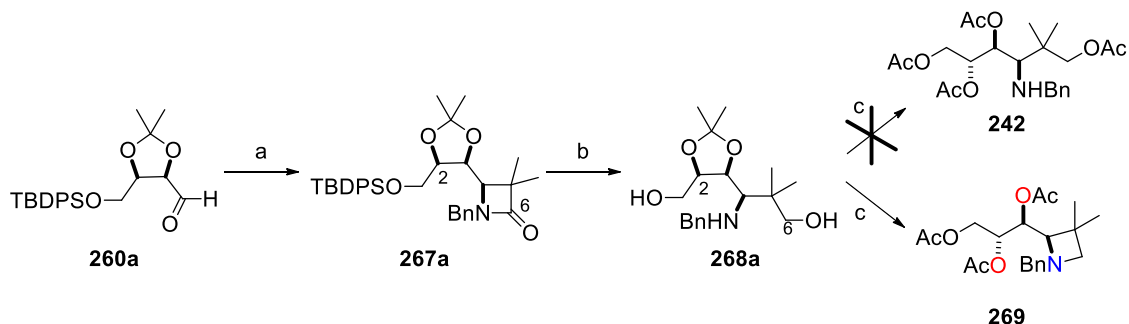
estereocontrolada las aminas **268a** y **268b** que se convertirían fácilmente en los modelos *anti/sin*-O2N (**242**) y *sin/sin*-O2N (**243**).²¹⁴



Esquema 109. Análisis retrosintético de los modelos tipo 1,2,3-O2N.

3.3.1. Síntesis del modelo 1,2-*anti*-2,3-*sin*-O2N (**242**)

Como muestra el Esquema 110, la ruta sintética llevada a cabo para obtener el compuesto **242** a partir del aldehído **260a**, no condujo al producto esperado sino que se obtuvo la azetidina **269**.



Esquema 110. *Reactivos y condiciones:* (a) 1. BnNH₂, CH₂Cl₂. 2. 2-bromoisobutirato de etilo, In, THF,))) (67% para los dos pasos); (b) LiAlH₄, THF, Δ (45%); (c) 1. TFA/H₂O 1:1. 2. Ac₂O, Py, DMAP (71% para los dos pasos).

El tratamiento de **260a**, obtenido en cinco etapas a partir de D-ramnosa (Esquema 106), con bencilamina en CH₂Cl₂ a 0 °C usando moléculas Sieves para retirar agua del medio,²¹⁵ rindió la correspondiente imina que al ser muy sensible, se utilizó inmediatamente en el siguiente paso sintético. Interesantemente, la adición de 2-bromoisobutirato de etilo a la imina formada, usando la misma metodología que en los casos de adición al aldehído descritos anteriormente, no condujo al β-aminoéster esperado sino que se obtuvo la β-lactama **267a**. De esta forma se ha desarrollado una

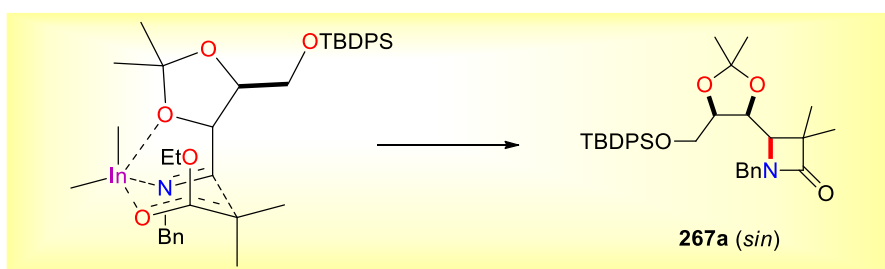
²¹⁴ Soengas, R. G.; Segade, Y.; Jiménez, C.; Rodríguez, J. *Tetrahedron* **2011**, 67, 2617-2622.

²¹⁵ Senczysyn, J.; Brice, H.; Clayden, J. *Org. Lett.* **2013**, 15, 1922-1925.

síntesis estereocontrolada sencilla y muy eficaz de derivados β -lactámicos a partir de carbohidratos.²¹⁴

La estructura de la β -lactama **267a** se confirmó por espectroscopia de RMN y por espectrometría de masas. El espectro de ^1H mostró la desaparición del protón del aldehído y la aparición de un doblete ($J = 9.2$ Hz) a 3.38 ppm correspondiente al protón H-4. También se observaron señales a δ_{H} 7.64, 7.37, 4.65 y 4.20, correspondientes a los grupos fenilo pero no se observaron las señales características del grupo etilo, indicando la ciclación. Su espectro de RMN de ^{13}C confirmó la formación del grupo amida por aparición de la señal a 174.9 ppm, y su espectro (+)-HR-ESIMS mostró el ión $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 558.3039 (masa calculada para $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{NO}_4\text{Si}$: 558.3034).

En cuanto a la estereoselectividad de esta reacción, al igual que con los aldehídos **260a** y **260b**, se puede explicar considerando un estado de transición de seis miembros que se forma al quelatarse el indio. Siguiendo de nuevo el trabajo de Qing y col.,^{209a} en este caso, los grupos bencilo e isopropilidenilo en la imina-*E* deben adoptar posiciones ortogonales y así el indio podría quelatarse con el átomo de nitrógeno. Otra ventaja de la posición ortogonal de la estructura de isopropilidenilo es que permite la formación del anillo de cinco miembros resultado de la quelatación entre el indio y el oxígeno del acetónido. Así, se formaría mayoritariamente el estado de transición mostrado en el Esquema 111, resultando la obtención altamente estereoselectiva del isómero *sin* **267a**.²⁰⁹ Este hecho explicaría las diferentes estereoselectividades obtenidas en las reacciones de alquilación de aldehídos (Esquemas 106 y 108) frente a iminas con 2-bromoisobutirato de etilo.



Esquema 111. Estado de transición propuesto para explicar la diastereoselectividad en la formación del isómero *sin*.

La reducción de la β -lactama **267a** con LiAlH_4 en THF a reflujo,²¹⁶ condujo al γ -aminoalcohol **268a** en un 45% de rendimiento, cuyo espectro de RMN de ^1H confirmó su estructura al mostrar el doblete ($J = 2.4$ Hz) a 3.51 ppm correspondiente a los dos protones diastereotópicos H-6. Por otro lado, el espectro de RMN de ^{13}C también mostró la reducción en la posición C-6 por la desaparición del carbono sp^2 a 174.9 ppm y la

²¹⁶ Assimomytis, N.; Sariyannis, Y.; Stavropoulos, G.; Tsoungas, P. G.; Varvounis, G.; Cordopatis, P.; *Synlett* **2009**, 2777-2782.

aparición de un carbono sp^3 a 72.5 ppm. Además, en estas condiciones también se produce la eliminación del grupo protector de silicio, ya que en su espectro de RMN de 1H no se observaron las señales a 7.64, 7.37 y 0.98 ppm correspondientes a este grupo.

La desprotección del 1,2-diol **268a** y posterior acetilación del tetraol resultante usando las mismas condiciones que en los casos descritos anteriormente, no condujo al producto esperado sino que se observó la formación de la azetidina **269**. La obtención del producto de ciclación quedó confirmada por sus espectros de RMN así como por espectrometría de masas. En el espectro de RMN de 1H de **269** se observó la presencia de tres singuletes en torno a 2 ppm que indicaron la existencia de tres grupos acetato. Esto se vio confirmado por la presencia en el RMN de ^{13}C de tres señales a 170.7, 170.2 y 169.9 ppm, correspondientes a los carbonilos de los tres grupos acetato, en vez de los cuatro esperados.

Para confirmar la estructura de **269** se realizó un experimento de RMN bidimensional HMBC, que mostró picos de cruce entre la señal del carbono bencílico C-7 con las señales de los protones H-4 y H-6a, así como un pico de cruce entre la señal del carbono de la posición C-6 con los protones bencílicos, confirmando la formación de la azetidina (Figura 81). Además su espectro (+)-ESIMS de alta resolución mostró el ión $[M+H]^+$ a m/z 392.2056 (masa calculada para $C_{21}H_{29}NO_6$: 392.2028), confirmando la formación de la azetidina.

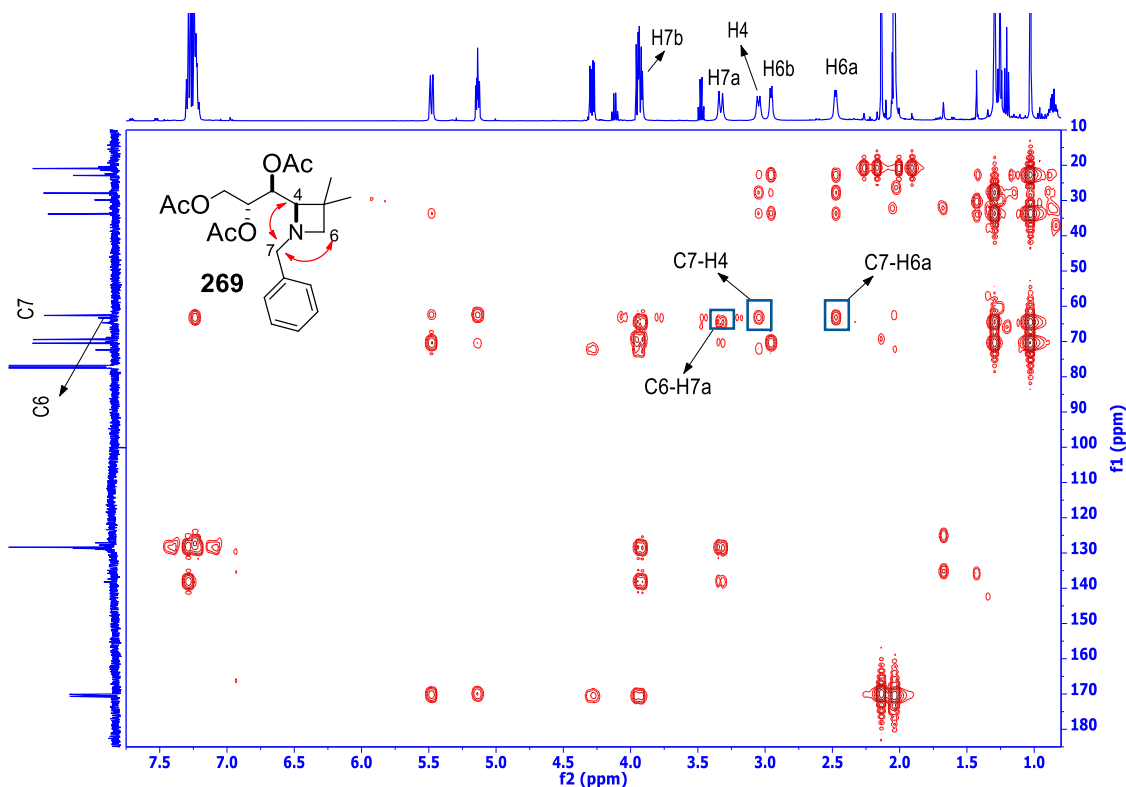


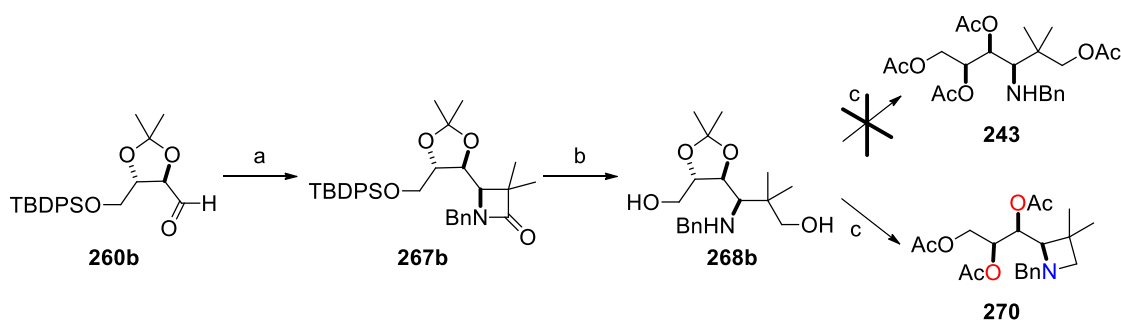
Figura 81. Espectro HMBC del compuesto **269** en $CDCl_3$ a 500 MHz.

A pesar de la existencia de un ciclo en este compuesto, se decidió utilizarlo como modelo en la metodología del análisis configuracional basado en las constante de acoplamiento, dada la flexibilidad del sistema carbonado en el que se encuentran los centros quirales.

Tras cinco etapas de síntesis, se obtuvo el modelo 1,2-*anti*-2,3-*sin*-O2N (**269**) a partir del aldehído **260a** con un rendimiento global del 21%.

3.3.2. Síntesis del modelo 1,2-*sin*-2,3-*sin*-O2N (**243**)

Como se muestra en el Esquema 112, la aplicación de las etapas (a) – (c) del Esquema 110 sobre el aldehído **260b**, obtenido en tres pasos a partir de L-tartrato de dimetilo (Esquema 108), al igual que en el caso anterior, no condujo al compuesto esperado **243** sino que se observó la formación de la azetidina **270**.



Esquema 112. Reactivos y condiciones: (a) 1. BnNH₂, CH₂Cl₂. 2. 2-bromoisobutirato de etilo, In, THF, γ) (84% para los dos pasos); (b) LiAlH₄, Et₂O, 45 °C (43%); (c) 1. TFA/H₂O 1:1. 2. Ac₂O, Py, DMAP (79% para los dos pasos).

El tratamiento de **260b** en las mismas condiciones que **260a**, proporcionó la β -lactama **267b** de forma altamente diastereoselectiva y con un rendimiento del 84%, cuya posterior reducción con hidruro de litio y aluminio permitió obtener el diol **268b**. Los datos espectroscópicos de RMN y la espectrometría de masas confirmaron la estructura de este producto.

Para llegar al compuesto **243** los últimos pasos consistieron en desproteger todos los hidroxilos para posteriormente convertirlos en grupos acetato, observando el mismo resultado que en el caso anterior: la obtención de la azetidina **270**. El espectro de RMN de ¹H mostró el desplazamiento de las tres señales de H-3, H-2 y H-4 a más frecuencia, apareciendo a 5.49, 5.15 y 3.06 ppm, respectivamente, junto con tres singuletes en torno a 2.00 ppm, pertenecientes a los tres grupos acetato. También se observó un cambio de la señal de los protones H-6, resonando como un doblete a 3.66 ppm en **268b** y como dos dobletes a 2.97 ppm y 2.47 ppm en **270**. Adicionalmente, la espectrometría de masas (+)-ESI de alta resolución confirmó la estructura de la azetidina al mostrar el ión [M+H] a m/z 392.2056 (calculada para C₂₁H₂₉NO₆: 392.2028).

La síntesis de modelo 1,2-*sin*-2,3-*sin*-O₂N (**270**), se completó en cinco etapas a partir del aldehído **260b** con un 28% de rendimiento global.

4. ANÁLISIS CONFIGURACIONAL A TRAVÉS DE $^3J(\text{H}, \text{H})$ Y $^{2,3}J(\text{C}, \text{H})$

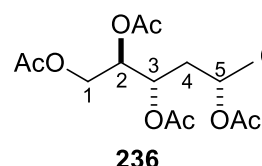
Para llevar a cabo el análisis configuracional de cada modelo, se aplicará la metodología de Murata para cada uno de los enlaces donde están implicados los centros quirales, determinando así la disposición relativa de cada uno de los sustituyentes en dichos enlaces. A continuación se muestran los resultados experimentales de cada modelo.

4.1. Análisis configuracional del modelo 1,2-*anti*-2,4-*sin*-O₃ (236)

En la Tabla 15 se representan los datos espectroscópicos del compuesto **236**.

Tabla 15. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) del compuesto **236** en CDCl_3 .

Carbono	δ_{C}	δ_{H} , mult. (J en Hz)
1	61.9	h: 4.14 dd (12.2, 6.9) l: 4.28 dd (12.2, 3.4)
2	71.8	5.13 ddd (6.9, 4.4, 3.4)
3	68.9	5.19 ddd (8.7, 4.2, 4.2)
4	36.1	h: 1.77 ddd (14.6, 8.7, 6.4) l: 1.98 ddd (14.6, 6.4, 4.2)
5	67.7	4.95 ddc (6.4, 6.4, 6.4)
6	19.7	1.24 d (6.4)



Hl protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

Las constantes de acoplamiento homonucleares protón-protón, se obtuvieron de su espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 a 500 MHz (Figura 82).

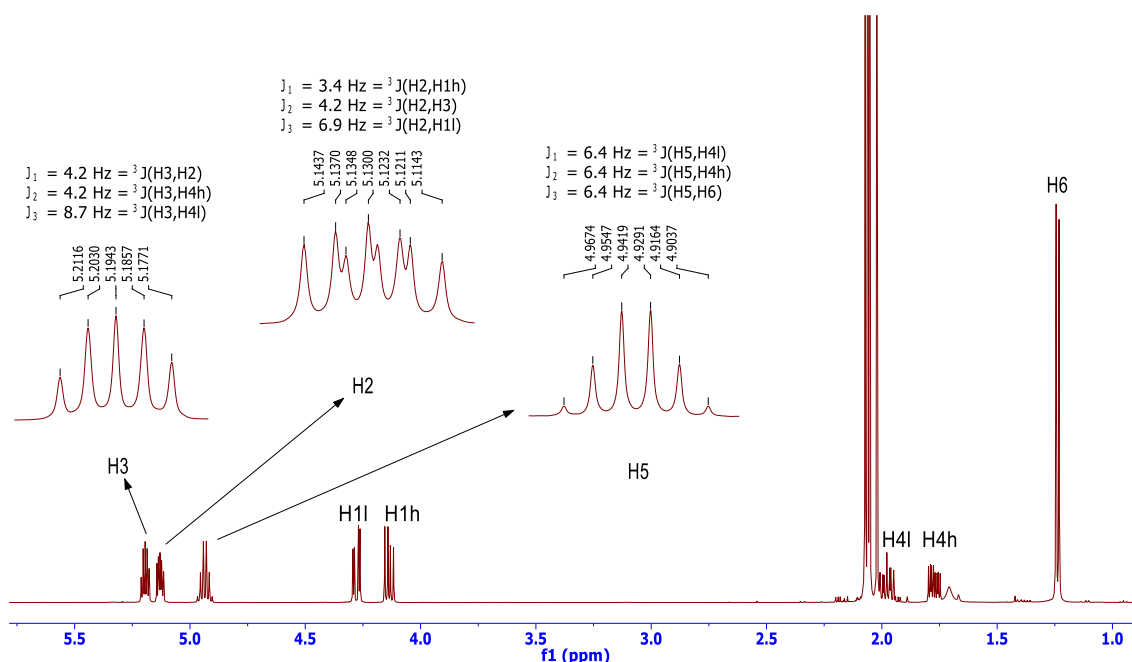


Figura 82. Espectro de RMN ^1H de **236** (500 MHz, CDCl_3) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-5.

Las constantes de acoplamiento heteronucleares se obtuvieron de los experimentos HETLOC y *J*-HMBC. En la Figura 83 se muestra el espectro HETLOC donde se observan los acoplamientos por desdoblamiento en F1 (escala vertical) de los picos de cruce.

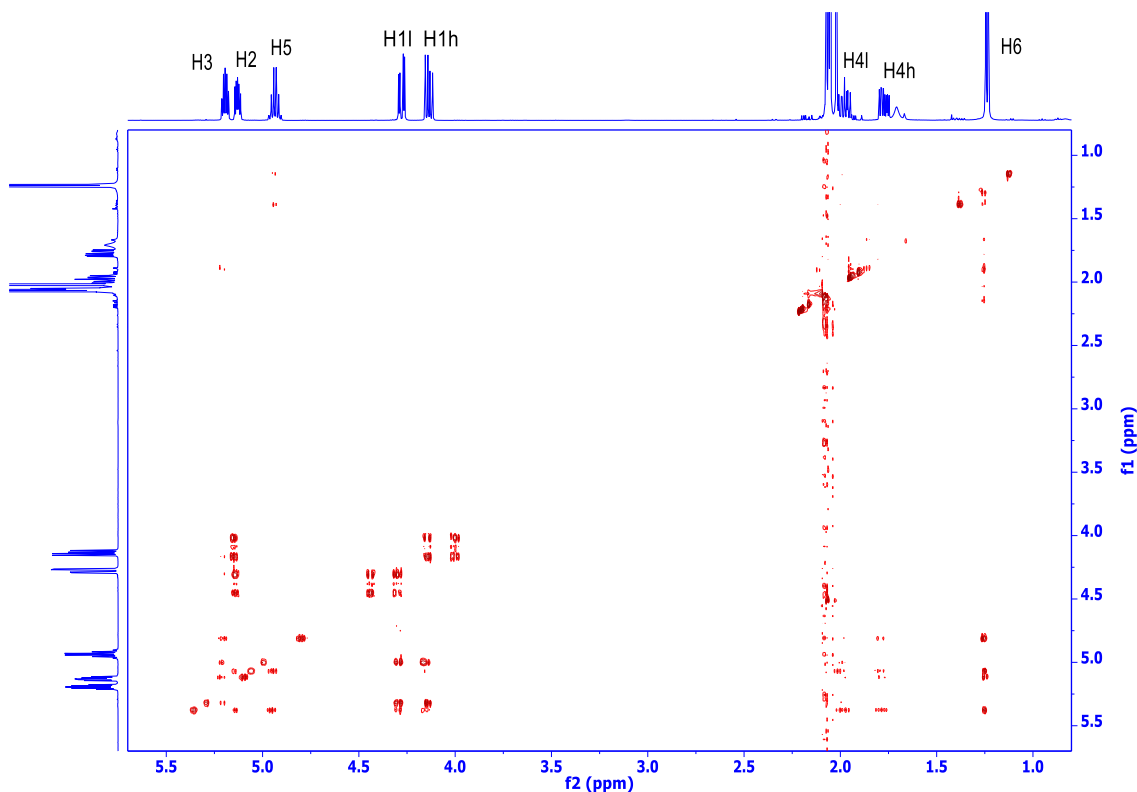


Figura 83. Espectro HETLOC del compuesto **236** (500 MHz, CDCl_3).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

En las Tablas 16 y 17 se recogen los valores esperados para las constantes de acoplamiento de los tres rotámeros alternados en torno al enlace C2—C3 con configuración *sin* (Tabla 16) y *anti* (Tabla 17) y los valores experimentales obtenidos para dicho enlace en **236**. Los valores medianos observados para la mayoría de las constantes de acoplamiento sugieren la existencia de un equilibrio conformacional entre al menos dos conformeros. La constante homonuclear $^3J(\text{H2}, \text{H3})$ pequeña/mediana (4.2 Hz) indica que ambos protones se encuentran en disposición *sinclinal*. Este valor junto con los valores de las constantes heteronucleares, claramente de valor mediano, indican un equilibrio entre los conformeros **I** y **III** o entre **IV** y **VI** (etiquetas verdes de las Tablas 16 y 17). Esta situación es claramente irresoluble si se utiliza el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento. Por tanto, este enlace se corresponde con un sistema No-Murata, representado como etiqueta naranja.

Tabla 16. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **236**.

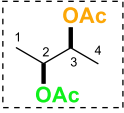
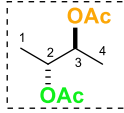
 <p><i>sin</i></p>					
<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	4.2	P/M
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	3.7	M
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	P	P	G	3.5	M
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-3.4	M
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	P	G	G	-2.5	M

Tabla 17. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **236**.

 <p><i>anti</i></p>					
<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	4.2	P/M
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	3.7	M
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	G	P	P	3.5	M
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-3.4	M
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	G	G	P	-2.5	M

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-5:

El fragmento C3—C5 es un sistema 1,3-dimetínico con dos átomos de oxígeno, por lo que estudiamos cada enlace por separado:

- Estudio del enlace C3—C4:

Para estudiar este enlace, se plantean dos disposiciones distintas: la **A** donde H-3 está en disposición *sin* respecto a H-4l, y la **B** donde ambos protones se encuentran en disposición *anti* (Figura 84).

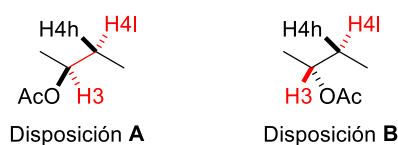
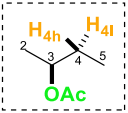


Figura 84. Disposiciones en torno al enlace C3—C4.

En torno al enlace C3—C4 (Tablas 18 y 19), las constantes de acoplamiento indican la presencia de un rotámero mayoritario. El valor pequeño (4.2 Hz) de $^3J(\text{H3}, \text{H4h})$ y grande (8.7 Hz) de $^3J(\text{H3}, \text{H4l})$, indican que H-3 está en disposición *sinclinal* con respecto a H-4h y en *antiperiplanar* con respecto a H-4l, condiciones que tan sólo cumplen los conformeros **II** y **IV**. En cuanto a las constantes heteronucleares, los valores pequeños de $^3J(\text{C2}, \text{H4h})$ y $^3J(\text{C2}, \text{H4l})$ indican que C-2 se encuentra en disposición *sinclinal* a ambos protones H-4, que coincide con la presencia de los rotámeros **II** o **IV**. Por otro lado, las constantes a dos enlaces muestran que el átomo electronegativo (O) está en disposición *antiperiplanar* a H-4h, ya que $^2J(\text{C3}, \text{H4h})$ es pequeña (-1.9 Hz), y en disposición *sinclinal* con respecto a H-4l, ya que $^2J(\text{C3}, \text{H4l})$ es grande (-6.3 Hz). Todas estas relaciones se cumplen únicamente en el conformero **IV** (etiqueta verde de la Tabla 19), por lo que la disposición en torno al enlace C3—C4 es la **B**.

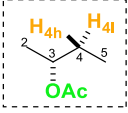
Tabla 18. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **A** en torno al enlace C3—C4 de **236**.



A

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	G	P	P	4.2	P
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	P	G	P	8.7	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	2.5	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	2.5	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	2.8	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	G	G	P	-1.9	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	P	G	G	-6.3	G

Tabla 19. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **B** en torno al enlace C3—C4 de **236**.



B

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	P	P	G	4.2	P
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	G	P	P	8.7	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	2.5	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	2.5	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	G	P	2.8	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	P	G	G	-1.9	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	G	P	L	-6.3	G

○ Estudio del enlace C4—C5:

Para el enlace C4—C5 también se plantean dos disposiciones distintas: la **C** donde H-5 está en disposición *sin* respecto a H-4h, y la **D** donde ambos protones se encuentra en *anti* (Figura 85).

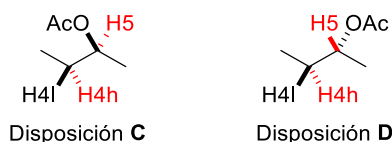
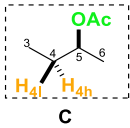


Figura 85. Disposiciones en torno al enlace C4—C5.

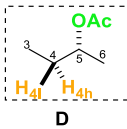
Desde un análisis cualitativo, se aprecia la existencia de un equilibrio conformacional más complejo que en el caso anterior, debido a los valores medianos observados en la mayoría de las constantes de acoplamiento (Tablas 20 y 21).

Tabla 20. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **C** en torno al enlace C4—C5 de **236**.



<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	P	G	P	6.4	M
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	G	P	P	6.4	M
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	P	G	2.8	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	4.2	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	P	G	G	-4.0	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	G	G	P	-5.6	G

Tabla 21. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **D** en torno al enlace C4—C5 de **236**.



<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	G	P	P	6.4	M
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	P	P	G	6.4	M
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	G	P	2.8	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	4.2	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	G	P	G	-4.0	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	P	G	G	-5.6	G

Los valores medianos de las constantes homonucleares indican que aquellos confórmeros en los que H-5 se encuentra con disposición *sinclinal* a ambos protones H-4 no pueden estar presentes, dejando tan sólo dos posibilidades de equilibrio: entre los rotámeros I y II o entre IV y VI. Si nos fijamos en las constantes heteronucleares, el valor pequeño (+2.8 Hz) de $^3J(\text{C}3, \text{H}5)$ indica que C-3 se encuentra en disposición *sinclinal* con respecto a H-5. Por otro lado, el valor pequeño (+1.6 Hz) de $^3J(\text{C}6, \text{H}4\text{h})$ muestra que C-6 está en disposición *sinclinal* a H-4h mientras que el valor mediano (+4.2 Hz) de $^3J(\text{C}6, \text{H}4\text{l})$ indica que con respecto a H-4l existe un equilibrio entre los confórmeros con disposiciones *sinclinal* y *antiperiplanar*. En cuanto a la disposición del átomo de oxígeno con respecto a ambos protones H-4: el valor mediano (-4.0 Hz) de $^2J(\text{C}5, \text{H}4\text{h})$ indica que el oxígeno y H-4h mantienen dos disposiciones en equilibrio *antiperiplanar* y *sinclinal*, mientras que la $^2J(\text{C}5, \text{H}4\text{l})$ grande (-5.6 Hz) muestra que el átomo O está en *sinclinal* a H-4l. Todas estas condiciones se cumplen únicamente para el equilibrio entre los confórmeros I y II (etiquetas verdes de la Tabla 20), siendo **C** la disposición presente en torno al enlace C4—C5.

Si se combinan los resultados obtenidos para los enlaces C3—C4 (**B**: disposición *anti* entre H-3 y H-4l) y C4—C5 (**C**: disposición *sin* entre H-5 y H-4h), se deduce una configuración relativa *sin* entre los dos acetatos en las posiciones C-3 y C-5 (Figura 86), coincidiendo con lo esperado para este compuesto.

Disposición **B** + Disposición **C**

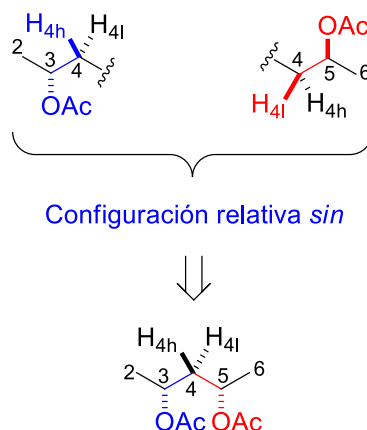


Figura 86. Combinación del análisis de los enlaces C3—C4 y C4—C5 para obtener la estereoquímica relativa entre C-3 y C-5 en **236**.

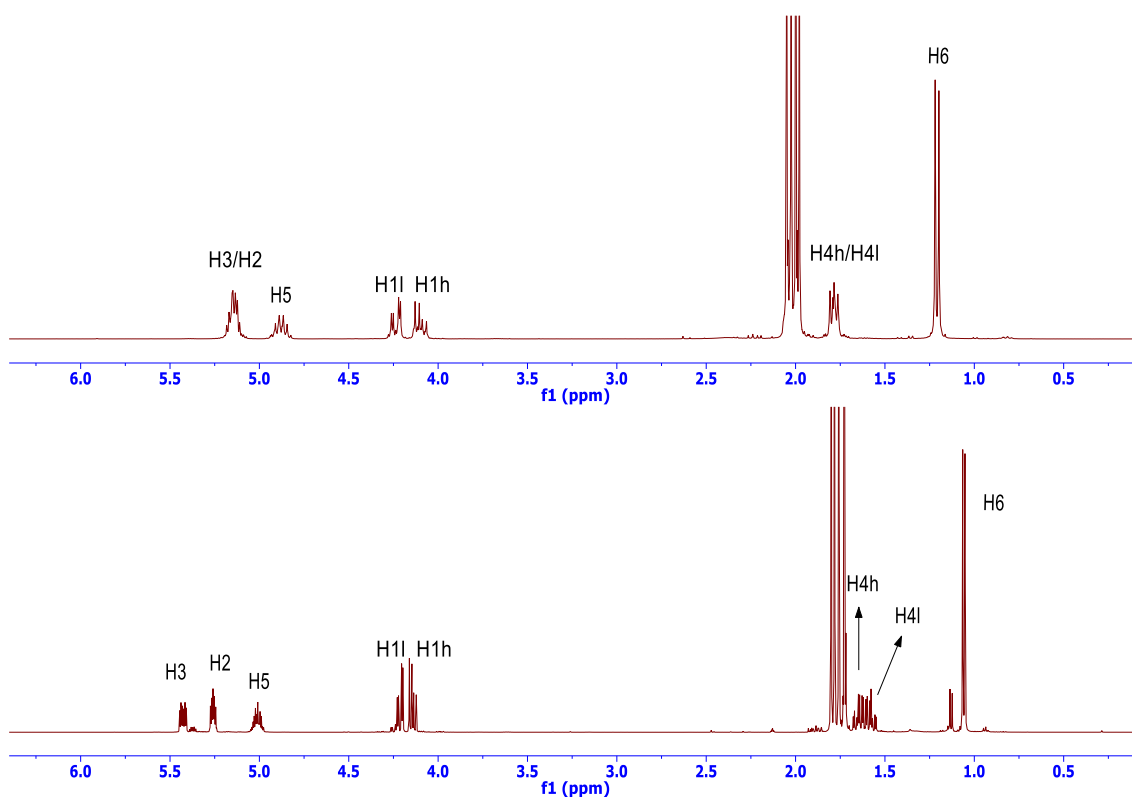
El análisis configuracional realizado permite clasificar los enlaces estudiados de la siguiente manera: los enlaces C3—C4 y C4—C5 son dos sistemas Murata, sin embargo el enlace C2—C3 es un Sistema No-Murata (Figura 87).



Figura 87. Etiquetas obtenidas para **236** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.2. Análisis configuracional del modelo 1,2-*anti*-2,4-*anti*-O₃ (237)

Como se observa en la Figura 88, en el espectro de RMN de ¹H de **237** en CDCl₃ (500 MHz), el solapamiento de los protones H-2 y H-3 y de los protones diastereotópicos H-4, imposibilita el análisis configuracional requerido. Afortunadamente, al realizar dicho experimento en tolueno deuterado (C₇D₈) se logra la separación de las señales de los protones mencionados, pudiéndose por tanto llevar a cabo dicho análisis.



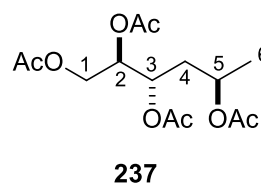
Hl protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

Figura 88. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **237** (500 MHz): superior en CDCl₃ e inferior en C₇D₈.

En la Tabla 22 se recogen los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y de ^{13}C en C_7D_8 del compuesto **237** de configuración (2*R*,3*S*,5*R*).

Tabla 22. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) en C_7D_8 del compuesto **237**.

Carbono	δ_{C}	δ_{H} , mult. (J en Hz)
1	62.1	h: 4.13 dd (12.1, 7.2) l: 4.20 dd (12.1, 4.2)
2	72.6	5.24 ddd (7.2, 4.2, 3.5)
3	68.2	5.41 ddd (10.7, 4.2, 3.5)
4	36.5	h: 1.56 ddd (14.5, 10.7, 3.5) l: 1.64 ddd (14.5, 10.2, 4.2)
5	65.9	5.00 ddc (10.2, 6.5, 3.5)
6	20.8	1.04 d (6.5)



HI protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

Las constantes de acoplamiento homonucleares protón-protón se pudieron obtener del espectro de RMN de ^1H , donde H-2, H-3, H-5, H-4l y H-4h presentan señales separadas y bien definidas (Figura 89).

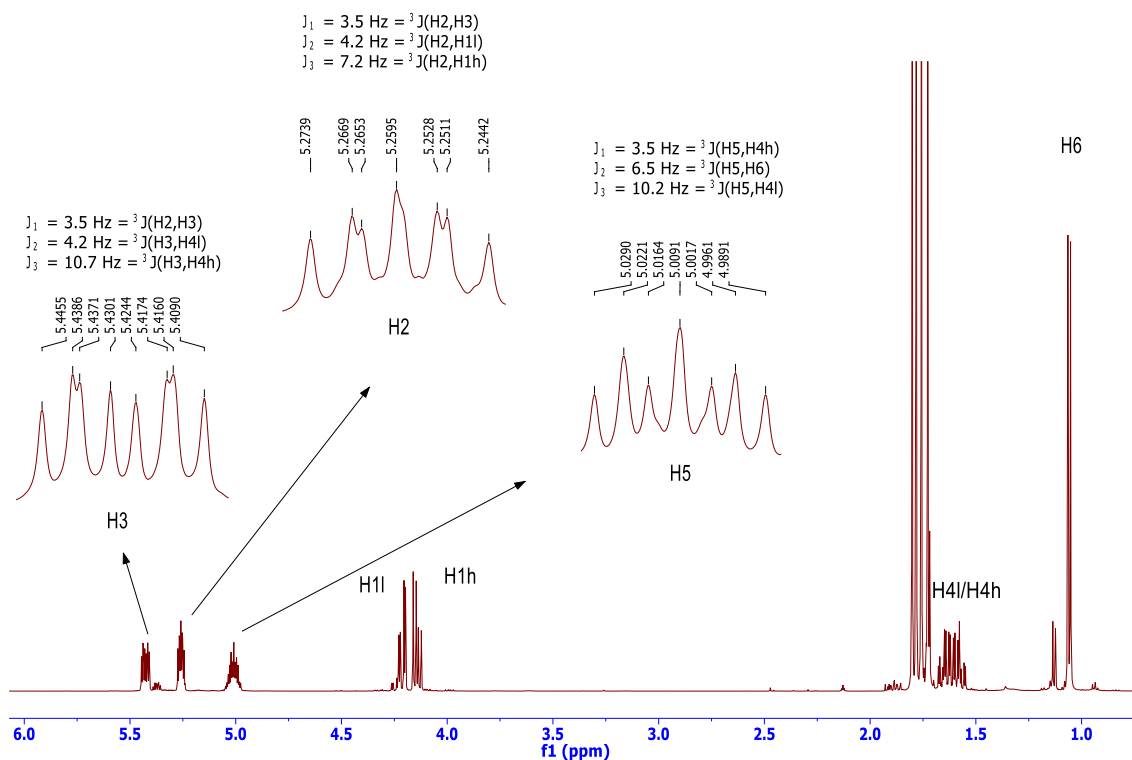


Figura 89. Espectro de RMN del compuesto **237** (500 MHz, C_7D_8) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-5.

Las constantes de acoplamiento heteronucleares C-H se obtuvieron de los experimentos HETLOC y *J*-HMBC. En la Figura 90 se muestra el espectro HETLOC en C₇D₈ a 500 MHz del compuesto **237**.

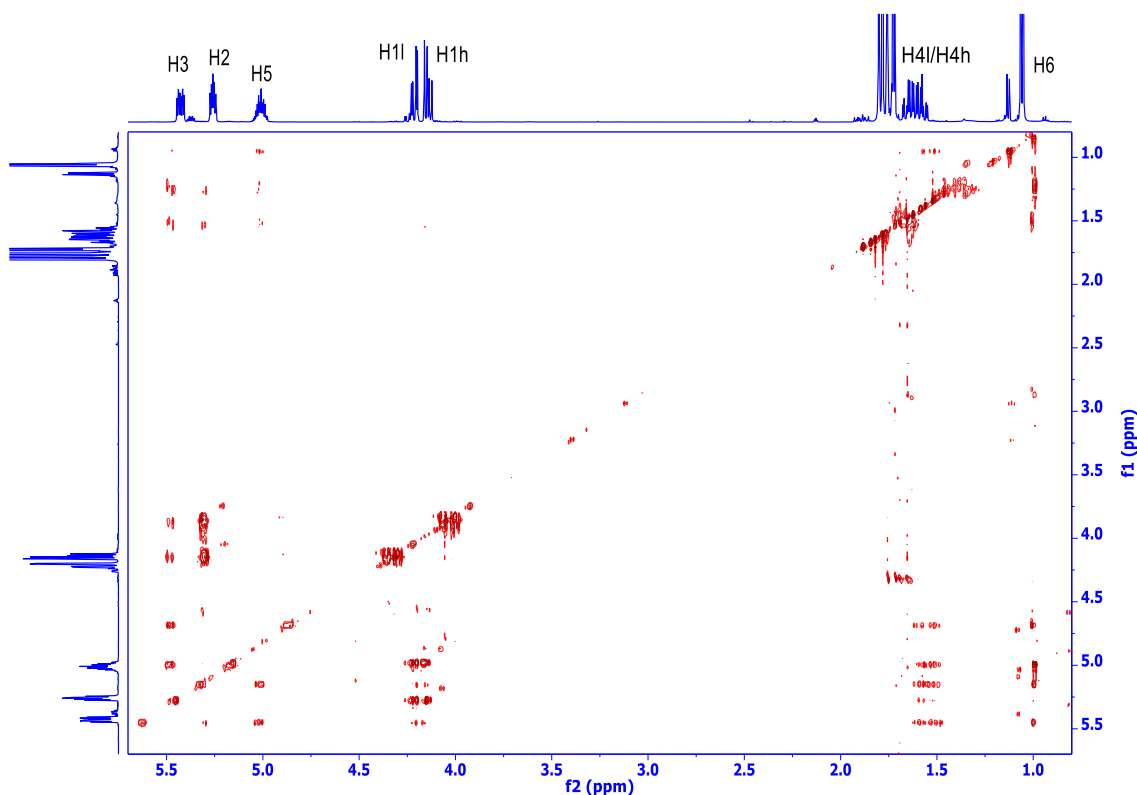
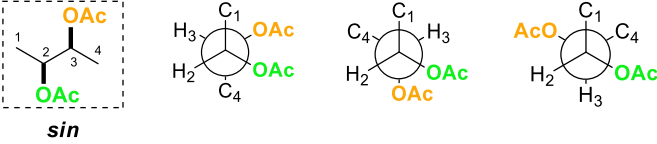


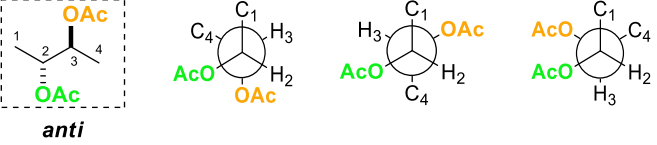
Figura 90. Espectro HETLOC del compuesto **237** (500 MHz, C₇D₈).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

El conjunto de constantes de acoplamiento obtenidas en torno al enlace C2—C3 de **237**, así como el valor que se predice para los conformeros alternados, se recogen en las Tablas 23 y 24. Desde un análisis cualitativo, todo parece indicar la existencia de un equilibrio conformacional, ya que se obtienen valores medianos en la mayoría de las constantes de acoplamiento. El valor pequeño (3.5 Hz) observado para $^3J(\text{H2}, \text{H3})$ indica que ambos protones se encuentran en disposición *sinclinal*, descartando por tanto, la existencia de cualquier equilibrio donde estén presentes los rotámeros **II** y **V**. En cuanto a las constantes de acoplamiento heteronucleares, el valor mediano observado para todas ellas, no aporta ninguna información adicional, ya que son compatibles con los equilibrios entre los conformeros **I** y **III** y entre los conformeros **IV** y **VI** (etiquetas verdes de las Tablas 23 y 24). Como ocurría con el compuesto **236**, nos encontramos con un equilibrio entre los dos rotámeros con disposición *sinclinal* entre H-2 y H-3 (representado como etiqueta naranja), que nos impide deducir la estereoquímica relativa entre estos dos centros. Por tanto, este enlace se ha clasificado como un sistema No-Murata.

Tabla 23. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **237**.


<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	3.5	P
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	3.8	M
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	P	P	G	2.8	P/M
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-2.8	M
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	P	G	G	-2.5	M

Tabla 24. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **237**.


<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	3.5	P
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	3.8	M
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	G	P	P	2.8	P/M
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-2.8	M
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	G	G	P	-2.5	M

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-5:

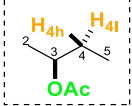
El fragmento C3—C5 es un sistema 1,3-dimetínico con dos átomos de oxígeno. Estudiamos cada enlace por separado:

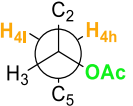
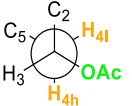
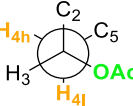
○ *Estudio del enlace C3—C4:*

En torno al enlace C3—C4 no se observan valores medianos de las constantes de acoplamiento (Tablas 25 y 26), lo que sugiere la presencia de un conformero mayoritario. Las constantes homonucleares grande (10.7 Hz) y pequeña (4.2 Hz) indican que H-3 posee una disposición *antiperiplanar* con respecto a H-4h y *sinclinal* con respecto a H-4l. Por su parte, el valor pequeño de todas las constantes heteronucleares vecinales muestra que C-5 ha de estar en disposición *sinclinal* a H-3 y que C-2 también se encuentra *sinclinal* a ambos protones H-4. Por último, el valor grande (-6.6 Hz) y pequeño (0 Hz) de las constantes heteronucleares geminales indican que el grupo electronegativo se encuentra *sinclinal* con respecto a H-4h y *antiperiplanar* con respecto

a H-4l. Todas estas condiciones tan sólo las cumple el conformero I (etiqueta verde de la Tabla 25), por lo tanto el enlace C3—C4 presenta la disposición **A**.

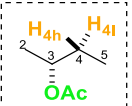
Tabla 25. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **A** en torno al enlace C3—C4 de **237**.

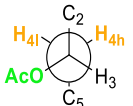
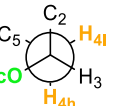
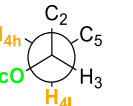


J	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	G	P	P	10.7	G
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	P	G	P	4.2	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	1.7	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	2.6	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	G	G	P	-6.6	G
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	P	G	G	0	P

Tabla 26. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **B** en torno al enlace C3—C4 de **237**.



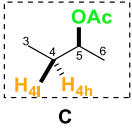
J	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	P	P	G	10.7	G
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	G	P	P	4.2	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	1.7	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	G	P	2.6	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	P	G	G	-6.6	G
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	G	P	G	0	P

○ Estudio del enlace C4—C5:

Si observamos los valores de las constantes de acoplamiento en torno al enlace C4—C5 (Tablas 27 y 28), apreciamos de nuevo la presencia de un conformero mayoritario, ya que no se observan valores medianos de las constantes de acoplamiento. Los valores pequeño (3.5 Hz) de $^3J(\text{H5}, \text{H4h})$ y grande (10.2 Hz) de $^3J(\text{H5}, \text{H4l})$, indican que H-5 posee una disposición *sinclinal* con respecto a H-4h y *antiperiplanar* con respecto a H-4l, indicando la presencia de los rotámeros I o VI. Por

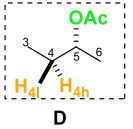
otro lado, el valor pequeño (+1.6 Hz) observado para $^3J(\text{C6}, \text{H4h})$, que indica que C-6 está en disposición *sinclinal* con respecto a H-4h, eliminando la presencia del confórmero VI, ya que en ese caso la disposición de ambos debería ser *antiperiplanar*. El confórmero I es el único que cumple con todas las condiciones (etiqueta verde de la Tabla 27). Por tanto, en torno al enlace C4—C5 está presente la disposición C.

Tabla 27. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición C en torno al enlace C4—C5 de **237**.



<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	P	G	P	3.5	P
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	G	P	P	10.2	G
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	P	G	2.7	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	3.0	P
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	P	G	G	-0.3	P
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	G	G	P	-6.7	G

Tabla 28. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición D en torno al enlace C4—C5 de **237**.



<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	G	P	P	3.5	P
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	P	P	G	10.2	G
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	G	P	2.7	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	3.0	P
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	G	P	G	-0.3	P
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	P	G	G	-6.7	G

Al combinar las disposiciones en torno a los enlaces C3—C4 (A: disposición *sin* entre H-3 y H-4l) y C4—C5 (C: disposición *sin* entre H-5 y H-4h), se obtiene como resultado una configuración relativa *anti* entre los dos acetatos en las posiciones C-3 y C-5 (Figura 91), que coincide con lo predicho por síntesis.

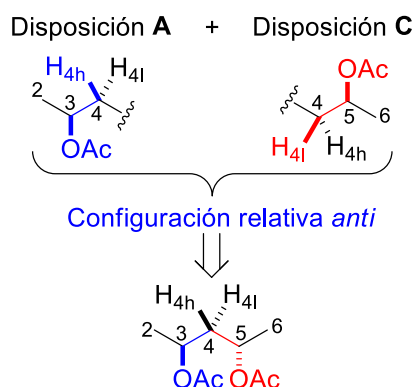


Figura 91. Combinación del análisis de los enlaces C3—C4 y C4—C5 para obtener la estereoquímica relativa entre C-3 y C-5 en **237**.

El análisis configuracional realizado permite clasificar los enlaces estudiados de la siguiente manera: los enlaces C3—C4 y C4—C5 son dos sistemas Murata, sin embargo el enlace C2—C3 es un sistema No-Murata (Figura 92).

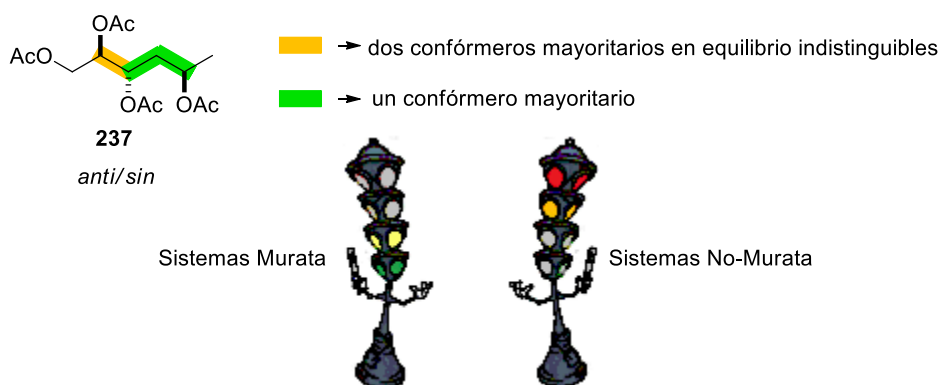


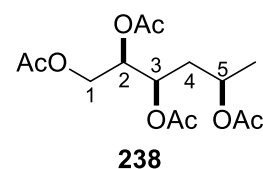
Figura 92. Etiquetas obtenidas para **237** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.3. Análisis configuracional del modelo 1,2-*sin*-2,4-*sin*-O₃ (**238**)

Se presentan en la Tabla 29 los datos espectroscópicos de RMN del compuesto **238**.

Tabla 29. Datos espectroscópicos de RMN de ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) en CDCl₃ del compuesto **238**.

Carbono	δ _c	δ _H , mult. (J en Hz)
1	62.2	h: 4.03 dd (11.8, 6.7) l: 4.27 dd (11.8, 4.6)
2	71.2	5.22 ddd (6.7, 4.6, 4.6)
3	68.6	5.18 ddd (7.8, 4.6, 4.6)
4	36.6	h: 1.75 ddd (14.5, 6.4, 4.6) l: 1.92 ddd (14.5, 7.8, 6.4)
5	67.6	4.92 ddc (6.4, 6.4, 6.4)
6	19.8	1.26 d (6.4)



HI protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

Las $^3J(\text{H,H})$ se extrajeron del espectro de RMN de ^1H (Figura 93), mientras que las $^2,3J(\text{C,H})$ se midieron del experimento HSQC-HECADE (Figura 94).

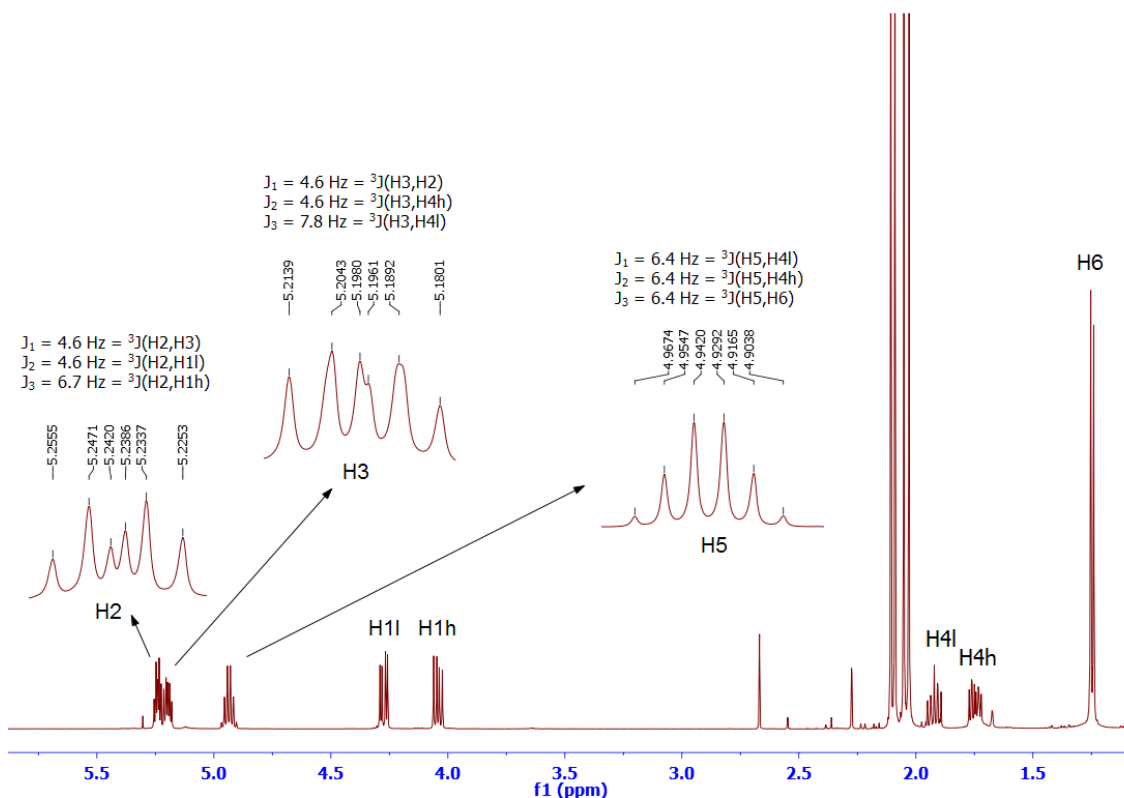


Figura 93. Espectro de RMN ^1H del compuesto **238** (500 MHz, CDCl_3) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-5.

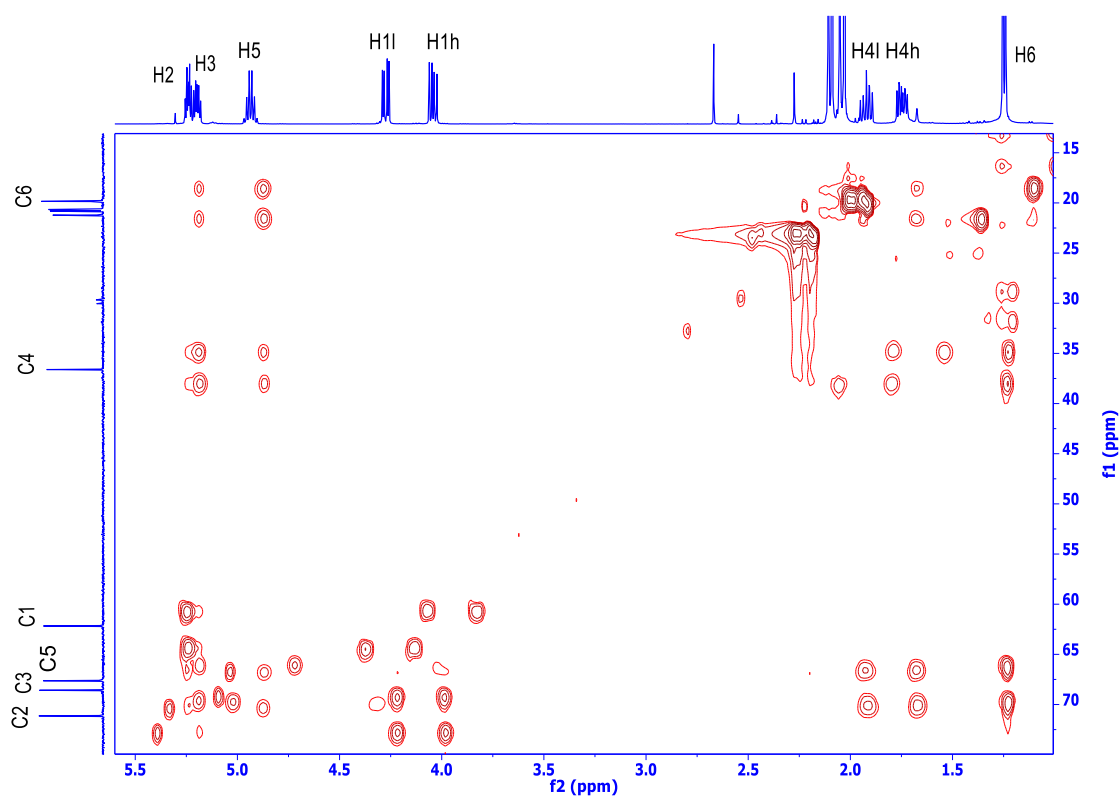


Figura 94. Espectro HSQC-HECADE del compuesto **238** (500 MHz, CDCl_3).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

El valor pequeño/mediano de $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$ y los valores pequeños obtenidos para todas las constantes heteronucleares a tres enlaces de distancia (Tablas 30 y 31), indican que en torno a este enlace hay un conformero mayoritario en el que se encuentran en disposición *sinclinal*: los protones H-3 y H-2; el carbono C-1 y el protón H-3; y el carbono C-4 y el protón H-2. Por otro lado, el valor pequeño también de las constantes a dos enlaces, indica que H-2 y H-3 están en disposición *antiperiplanar* al oxígeno. Todas estas condiciones las cumple únicamente el conformero I (etiqueta verde de la Tabla 30), confirmando por tanto la configuración relativa *sin* de los protones H-2 y H-3.

Tabla 30. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **238**.

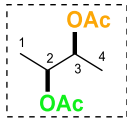
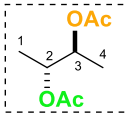
 <i>sin</i>					
<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	4.6	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	0	P
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	P	P	G	1.0	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-0.6	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	P	G	G	-0.7	P

Tabla 31. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C3—C4 de **238**.

 <i>anti</i>					
<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	4.6	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	0	P
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	G	P	P	1.0	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-0.6	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	G	G	P	-0.7	P

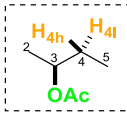
Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-5:

El fragmento C3—C5 es un sistema 1,3-dimetínico con dos átomos de oxígeno. A continuación se muestra lo que ocurre para cada enlace:

○ Estudio del enlace C3—C4:

En cuanto al enlace entre las posiciones C-3 y C-4, se observaron valores medianos para algunas constantes de acoplamiento (Tablas 32 y 33), lo que apunta a un equilibrio conformacional. Las constantes homonucleares medianas (4.6 Hz y 7.8 Hz), indican que aquellos conformeros en los que H-3 se encuentra en disposición *sinclinal* a ambos protones H-4 no pueden estar presentes, dejando solamente dos posibilidades de equilibrio: entre los rotámeros **I** y **II** o entre los rotámeros **IV** y **VI**. Por otro lado, el valor pequeño (+2.3 Hz) de $^3J(\text{C2}, \text{H4h})$, elimina la posibilidad de un equilibrio entre **I** y **II**, ya que en este caso debería ser mediana. Por tanto, existe un equilibrio conformacional entre los conformeros **IV** y **VI** (etiquetas verdes de la Tabla 33), por lo que el enlace C3—C4 presenta la disposición **B**, representado como etiqueta amarilla.

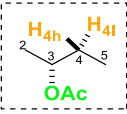
Tabla 32. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **A** en torno al enlace C3—C4 de **238**.



A

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	G	P	P	4.6	P/M
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	P	G	P	7.8	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	2.3	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	3.6	P/M
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	3.7	P/M
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	G	G	P	-2.8	P/M
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	P	G	G	-6.4	G

Tabla 33. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **B** en torno al enlace C3—C4 de **238**.



B

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	P	P	G	4.6	P/M
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	G	P	P	7.8	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	2.3	P
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	3.6	P/M
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	G	P	3.7	P/M
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	P	G	G	-2.8	P/M
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	G	P	G	-6.4	G

○ Estudio del enlace C4—C5:

En las Tablas 34 y 35 se recogen los valores de las constantes en torno al enlace C4—C5, donde se aprecia mezcla de rotámeros. El valor mediano de las $^3J(\text{H},\text{H})$ indica la existencia de un equilibrio entre los rotámeros I y II o entre los rotámeros IV y VI, ya que H-5 no puede estar en disposición *sinclinal* a ambos protones H-4, eliminando cualquier posibilidad de equilibrio con los conformeros III y V. Por otra parte, las $^3J(\text{C},\text{H})$ indican una disposición *sinclinal* de C-3 con H-5 y de C-6 con H-4h. Todos estos datos concuerdan con un equilibrio entre los conformeros I y II (etiquetas verdes de la Tabla 34). Por tanto, el enlace C4—C5 presenta la disposición C.

Tabla 34. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición C en torno al enlace C4—C5 de **238**.

				Exp./Hz	
<i>J</i>	I	II	III		
$^3J(\text{H5},\text{H4h})$	P	G	P	6.4	M
$^3J(\text{H5},\text{H4l})$	G	P	P	6.4	M
$^3J(\text{C3},\text{H5})$	P	P	G	2.1	P
$^3J(\text{C6},\text{H4h})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C6},\text{H4l})$	P	G	P	—	n.m.
$^2J(\text{C5},\text{H4h})$	P	G	G	-3.9	G/M
$^2J(\text{C5},\text{H4l})$	G	G	P	-5.6	G

n.m. = no se puede medir

Tabla 35. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición D en torno al enlace C4—C5 de **238**.

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5},\text{H4h})$	G	P	P	6.4	M
$^3J(\text{H5},\text{H4l})$	P	P	G	6.4	M
$^3J(\text{C3},\text{H5})$	P	G	P	2.1	P
$^3J(\text{C6},\text{H4h})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C6},\text{H4l})$	P	G	P	—	n.m.
$^2J(\text{C5},\text{H4h})$	G	P	G	-3.9	G/M
$^2J(\text{C5},\text{H4l})$	P	G	G	-5.6	G

n.m. = no se puede medir

Si se combinan los resultados obtenidos para los enlaces C3—C4 (**B**: disposición *anti* entre H-3 y H-4l) y C4-C5 (**C**: disposición *sin* entre H-5 y H-4h), se deduce que los dos acetatos de las posiciones C-3 y C-5 poseen una configuración relativa *sin* (Figura 95), coincidiendo con lo predicho experimentalmente.

Disposición **B** + Disposición **C**

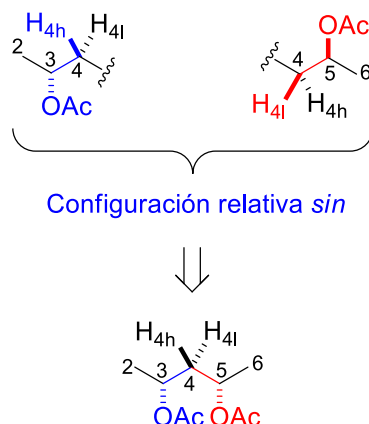


Figura 95. Combinación del análisis de los enlaces C3—C4 y C4—C5 para obtener la estereoquímica relativa entre C-3 y C-5 en **238**.

Por tanto, se puede deducir la estereoquímica relativa para este modelo 1,2-*sin*-2,4-*sin*-O3 (**238**, Figura 96), ya que los tres sistemas presentes son sistemas Murata.

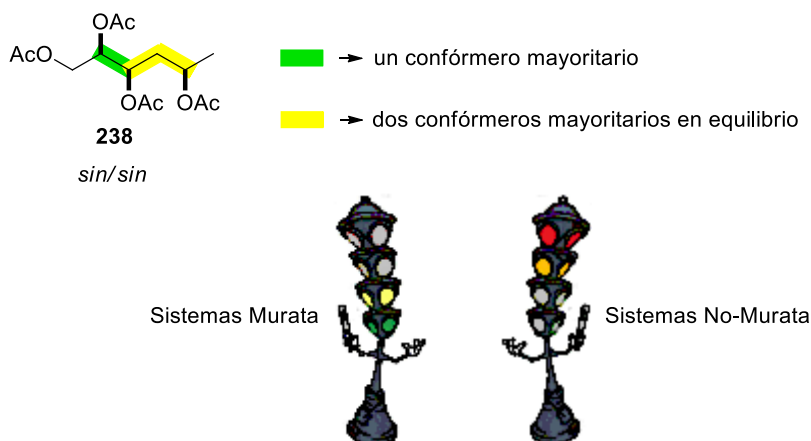


Figura 96. Etiquetas obtenidas para **238** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.4. Análisis configuracional del modelo 1,2-*sin*-2,4-*anti*-O₃ (239)

Al igual que ocurría con el compuesto **237**, en el espectro de RMN de ¹H de **239** en CDCl₃ (500 MHz), los protones H-2 y H-3 tienen desplazamientos químicos muy similares y los protones diastereotópicos H-4 aparecen solapados (Figura 97), lo que dificultaría el análisis configuracional. Cuando se realizó el experimento en C₆D₆, las señales H-3 y H-2 muestran una mayor dispersión, pero en cambio las de los protones H-4l y H-4h aparecen aún más solapadas.

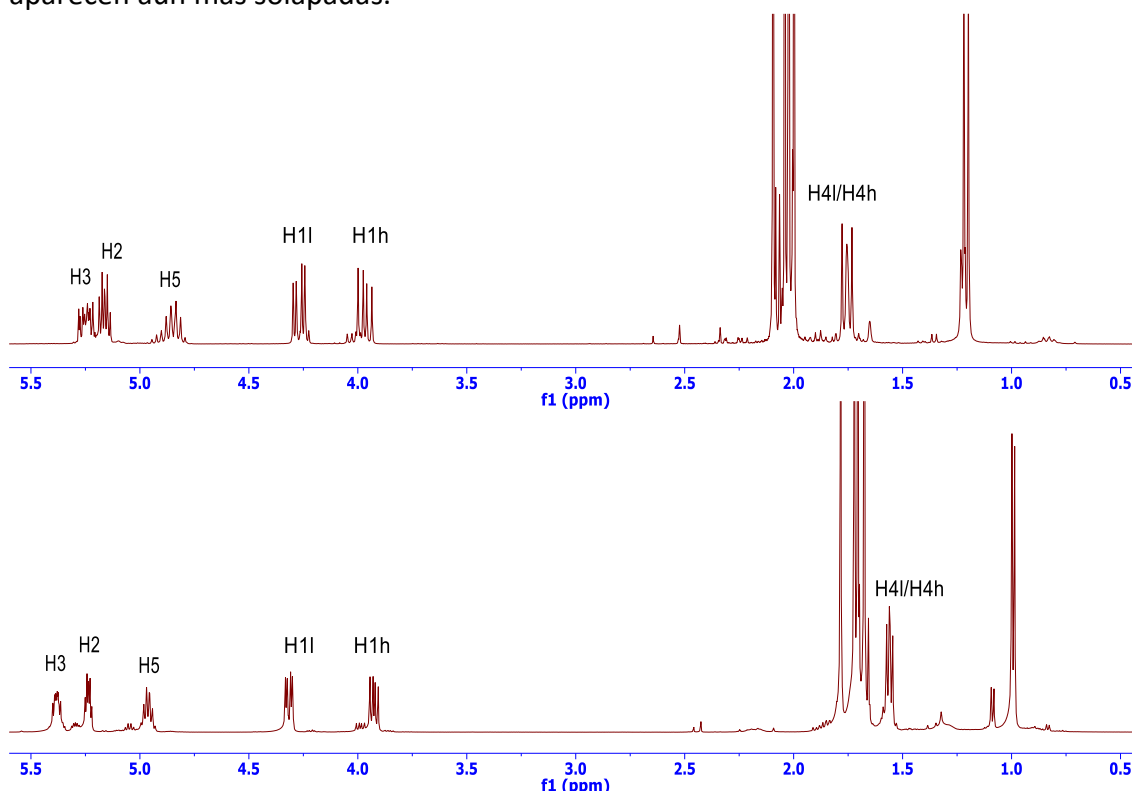
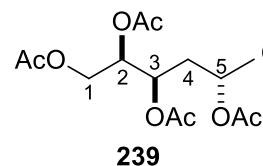


Figura 97. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **239** (500 MHz): inferior en C₆D₆ y superior en CDCl₃.

En la Tabla 36 se recogen los datos de RMN de ¹H y de ¹³C en C₆D₆ de **239**.

Tabla 36. Datos espectroscópicos de RMN de ¹H (500 MHz) y ¹³C (125Mz) en C₆D₆ del compuesto **239**.

Carbono	δ _C	δ _H , mult. (J en Hz)
1	62.6	h: 3.93 dd (11.9, 7.1) l: 4.32 dd (11.9, 4.2)
2	72.0	5.16 ddd (7.1, 4.2, 4.0)
3	67.8	5.38 ddd (7.9, 6.2, 4.0)
4	36.9	h: 1.76 ddd ^[a] (11.0, 6.2, 6.1) l: 1.77 ddd ^[a] (11.0, 7.9, 6.0)
5	66.1	4.96 ddc (6.1, 6.0, 6.0)
6	20.1	0.99 d (6.0)



[a] desplazamientos y multiplicidad extraídos del espectro de RMN en CDCl₃.
Hl protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

El conjunto de constantes de acoplamiento homonucleares protón-protón se extrajo del espectro de RMN de ^1H en C_6D_6 a 500 MHz, donde H-3, H-2 y H-5 presentan señales separadas y bien definidas (Figura 98).

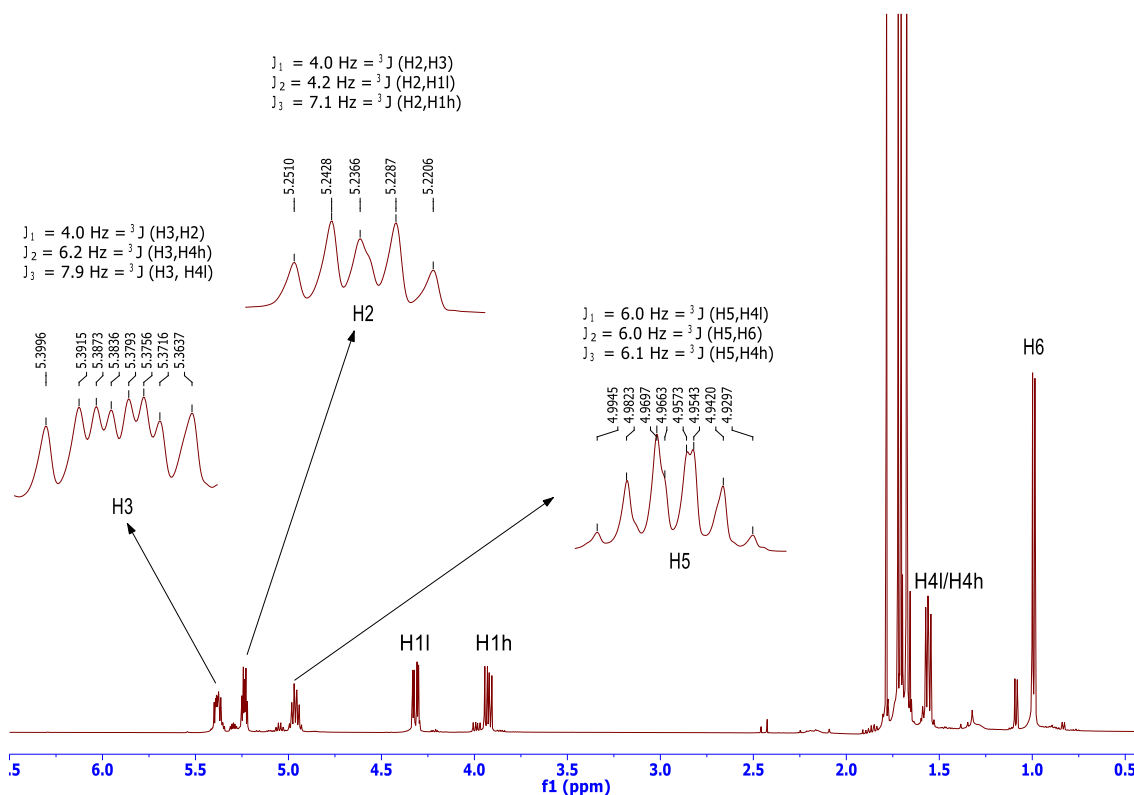


Figura 98. Espectro de RMN ^1H del compuesto **239** (500 MHz, C_6D_6) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-5.

El espectro de **239** en CDCl_3 fue clave para las medidas de ${}^3J(\text{C}, \text{H})$ y ${}^2J(\text{C}, \text{H})$, ya que en C_6D_6 no se pudieron medir la mayoría de los acoplamientos debido a la interferencia de las señales. Esto es debido a que los protones H-4h y H-4l, no diferenciados, no permiten la lectura de sus acoplamientos con H-3 ni con H-5 por lo que no se podría discriminar la posición relativa entre C-3 y C-5.

En la Figura 99 se muestra el espectro HSQC-HECADE en CDCl_3 de donde se extrajeron las constantes de acoplamiento heteronucleares.

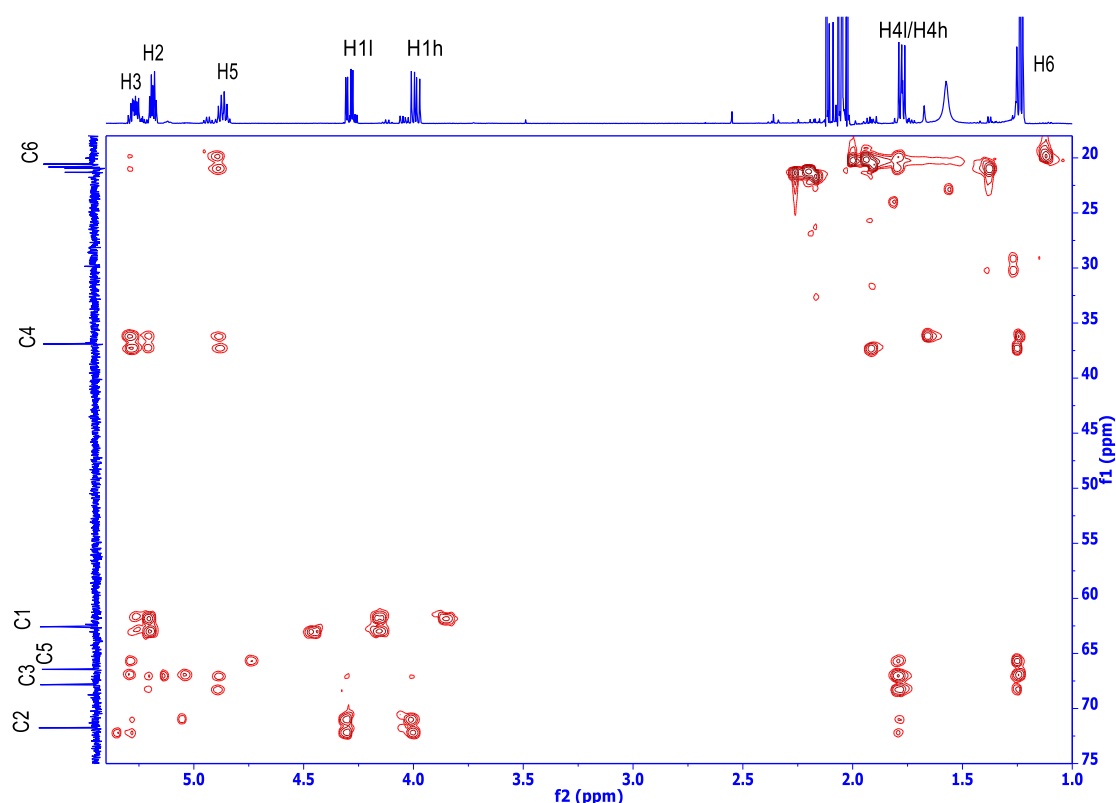
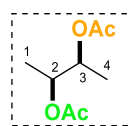


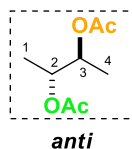
Figura 99. Espectro HSQC-HECADE del compuesto **239** (500 MHz, CDCl_3).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

Las constantes obtenidas para el enlace C2—C3 se reflejan en las Tablas 37 y 38. Los valores pequeños observados para todas las constantes homo y heteronucleares a tres enlaces de distancia, indican que en torno a este enlace hay un conformero mayoritario en el que se encuentran en disposición *sinclinal*: los protones H-3 y H-2; el carbono C-1 y el protón H-3; y el carbono C-4 y el protón H-2. Por otro lado, los valores pequeños de las constantes a dos enlaces $^2J(\text{C2}, \text{H3})$ y $^2J(\text{C3}, \text{H2})$, indican que H-2 y H-3 están en disposición *antiperiplanar* al oxígeno. Todas estas condiciones las cumple únicamente el conformero **I** (etiqueta verde de la Tabla 37), confirmando por tanto la configuración relativa *sin* de los protones H-2 y H-3.

Tabla 37. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **239**.

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	4.0	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	2.0	P
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	P	P	G	1.9	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-0.2	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	P	G	G	-0.4	P

Tabla 38. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **239**.

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	4.0	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	2.0	P
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	G	P	P	1.9	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-0.2	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	G	G	P	-0.4	P

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-5:

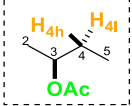
El fragmento C3—C5 es un sistema 1,3-dimetínico con dos átomos de oxígeno. Veamos ahora la situación encontrada para cada enlace:

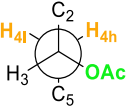
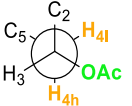
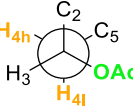
○ *Estudio del enlace C3—C4:*

Las constantes homonucleares medianas (6.2 Hz y 7.9 Hz) sugieren la presencia de un equilibrio entre dos o más confórmeros (Tablas 39 y 40), donde los rotámeros en los que H-5 se encuentra con disposición *sinclinal* a ambos protones H-4 no pueden estar presentes, dejando solamente dos posibilidades de equilibrio: entre los rotámeros **I** y **II** o entre los rotámeros **IV** y **VI**. El valor pequeño (+1.6 Hz) de la constante heteronuclear entre C-2 y H-4l elimina la presencia de un equilibrio entre **IV** y **VI**, ya que en este caso la constante debería ser mediana. Por tanto, existe un equilibrio entre los rotámeros **I** y

II (etiquetas verdes de la Tabla 39), es decir en torno al enlace C3—C4 está presente la disposición A.

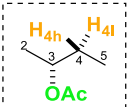
Tabla 39. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición A en torno al enlace C3—C4 de **239**.

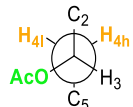
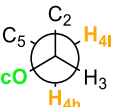
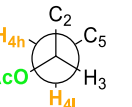


<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	G	P	P	6.2	M
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	P	G	P	7.9	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	3.0	P/M
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	2.2	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	G	G	P	-5.2	G
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	P	G	G	-3.3	M

Tabla 40. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición B en torno al enlace C3—C4 de **239**.



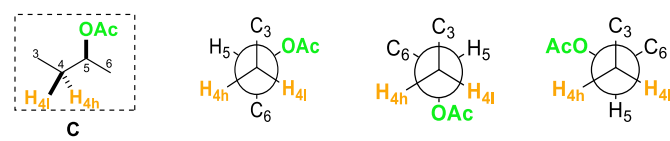
<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4h})$	P	P	G	6.2	M
$^3J(\text{H3}, \text{H4l})$	G	P	P	7.9	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4h})$	P	G	P	3.0	P/M
$^3J(\text{C2}, \text{H4l})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	G	P	2.2	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4h})$	P	G	G	-5.2	G
$^2J(\text{C3}, \text{H4l})$	G	P	G	-3.3	M

○ Estudio del enlace C4—C5:

Este enlace presenta una situación similar a la del caso anterior. Los valores medianos de las $^3J(\text{H}, \text{H})$ indican un equilibrio entre los confórmeros I y II o entre los confórmeros IV y VI (Tablas 41 y 42). El valor mediano (-3.3 Hz) de la constante geminal entre C-5 y H-4h descarta la presencia de un equilibrio entre IV y VI, ya que en tal caso la constante debería ser grande. Por tanto, existe un equilibrio conformacional entre I y

II (etiquetas verdes de la Tabla 41), siendo **C** la disposición que está presente en torno al enlace C4—C5.

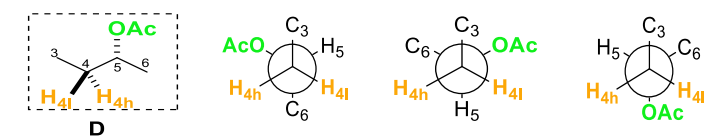
Tabla 41. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **C** en torno al enlace C4—C5 de **239**.



<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	P	G	P	6.1	M
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	G	P	P	6.0	M
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	P	G	1.4	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	n.m.	—
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	n.m.	—
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	P	G	G	-3.3	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	G	G	P	-4.2	G

n.m. = no se puede medir

Tabla 42. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la disposición **D** en torno al enlace C4—C5 de **239**.



<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H5}, \text{H4h})$	G	P	P	6.1	M
$^3J(\text{H5}, \text{H4l})$	P	P	G	6.0	M
$^3J(\text{C3}, \text{H5})$	P	G	P	1.4	P
$^3J(\text{C6}, \text{H4h})$	P	P	G	n.m.	—
$^3J(\text{C6}, \text{H4l})$	P	G	P	n.m.	—
$^2J(\text{C5}, \text{H4h})$	G	P	G	-3.3	M
$^2J(\text{C5}, \text{H4l})$	P	G	G	-4.2	G

n.m. = no se puede medir

Al combinar las disposiciones en torno a los enlaces C3—C4 (**A**: disposición *sin* entre H-3 y H-4l) y C4—C5 (**C**: disposición *sin* entre H-5 y H-4h), se obtiene como resultado una configuración relativa *anti* entre los dos acetatos en las posiciones C-3 y C-5 (Figura 100), coincidiendo con lo predicho experimentalmente.

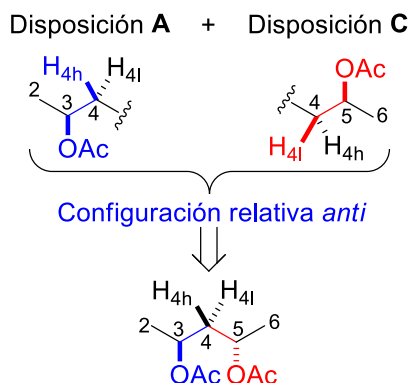


Figura 100. Combinación del análisis de los enlaces C3—C4 y C4—C5 para obtener la estereoquímica relativa entre C-3 y C-5 en **239**.

Por tanto, se puede deducir la estereoquímica relativa para este modelo 1,2-*sin*-2,4-*anti*-O3 (**239**, Figura 101) sin necesidad de hacer espectros a temperatura variable ya que los tres sistemas presentes son sistemas Murata.

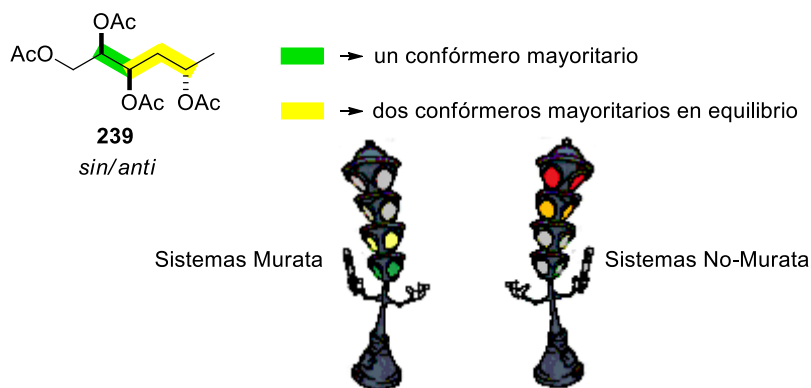


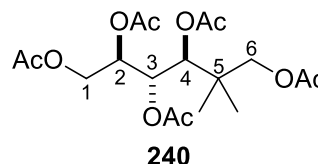
Figura 101. Etiquetas obtenidas para **239** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.5. Análisis configuracional del modelo 1,2-*anti*-2,3-*anti*-O3 (**240**)

Los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y de ^{13}C del compuesto **240**, de configuración absoluta (2*R*,3*S*,4*S*), se presentan en la Tabla 43.

Tabla 43. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz) y ^{13}C (125 MHz) del compuesto **240** en CDCl_3 .

Carbono	δ_{C}	δ_{H} , mult. (<i>J</i> en Hz)
1	62.1	h: 4.18 dd (11.2, 8.2) l: 4.38 dd (11.2, 2.9)
2	71.2	5.28 ddd (8.5, 2.9, 2.9)
3	71.0	5.44 dd (6.0, 2.9)
4	74.1	5.12 d (6.0)
5	38.0	—
6	69.4	h: 3.73 d (11.2) l: 3.88 d (11.2)
CH ₃	20.6	1.01 s
CH ₃	20.5	1.00 s



HI protón que aparece a más ppm. HI protón que aparece a menos ppm.

Las $^3J(\text{H,H})$ fueron obtenidas fácilmente de su espectro de RMN de ^1H (Figura 102).

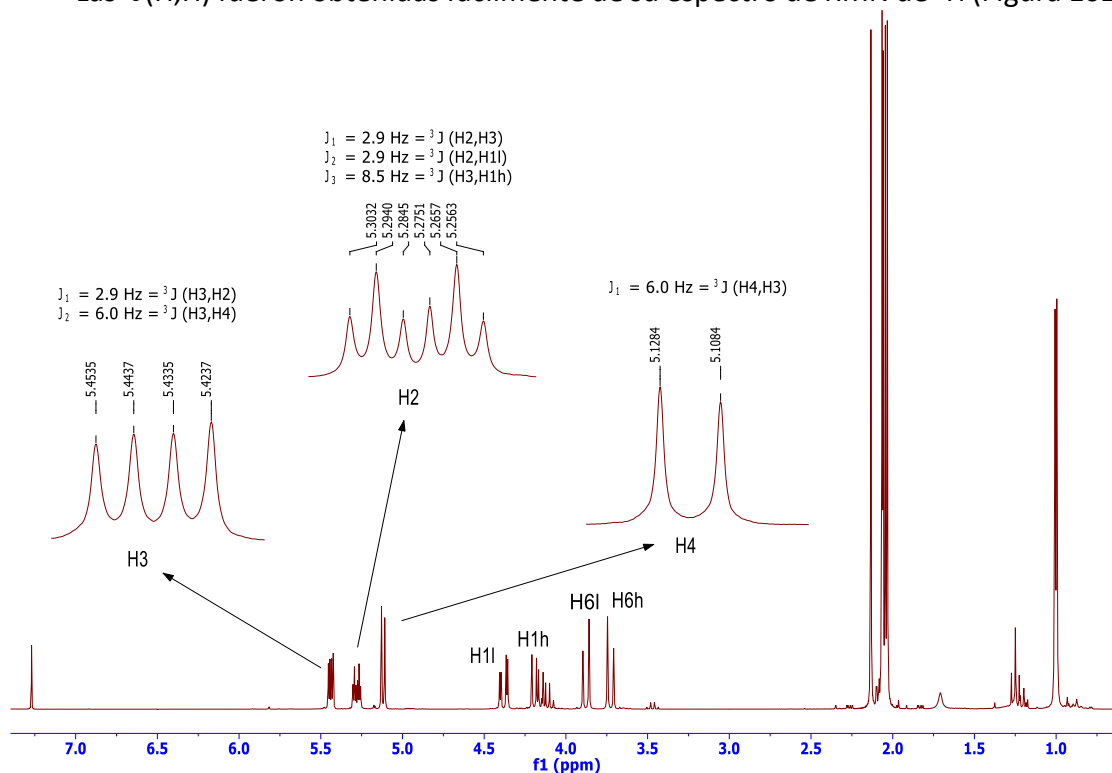


Figura 102. Espectro de RMN ^1H del compuesto **240** (300 MHz, CDCl_3) y análisis de las señales de los protones H-1h, H-1l, H-3 y H-4.

Mientras que las constantes heteronucleares se extrajeron de los espectros bidimensionales HETLOC y J -HMBC. En la Figura 103 se muestra el espectro J -HMBC.

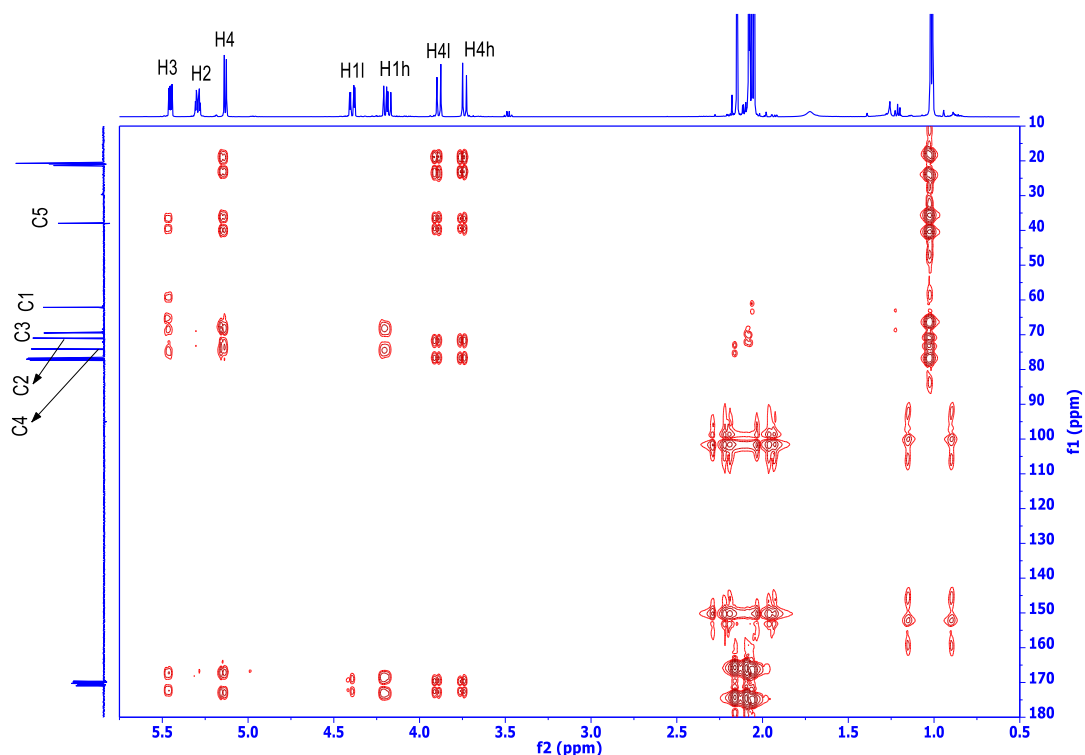


Figura 103. Espectro J -HMBC de **240** (500 MHz, CDCl_3) con un factor de escala de 155.

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

En las Tablas 44 y 45 se recogen los valores de las constantes de acoplamiento para este enlace. El valor pequeño (2.9 Hz) de $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$ elimina la presencia de los conformeros **II** y **V**. En relación a las constantes heteronucleares, el valor grande de $^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$ indica que C-1 se encuentra en disposición *antiperiplanar* con respecto a H-3, por lo que los rotámeros **I** y **IV** no pueden estar presentes. Por otro lado, la constante pequeña (+2.2 Hz) entre C-4 y H-2 indica que ambos átomos están en disposición *sinclinal*, siendo el conformero **VI** el único que cumple estas relaciones (etiqueta verde de la Tabla 45), corroborando este resultado la configuración relativa *anti* de los protones H-2 y H-3.

Tabla 44. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **240**.

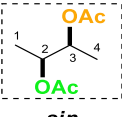
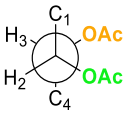
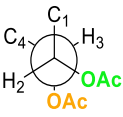
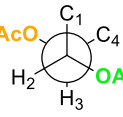
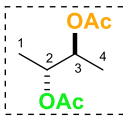
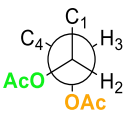
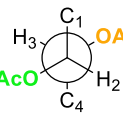
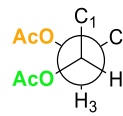
				Exp./Hz	
<i>J</i>	I	II	III		
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	2.9	P
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	5.8	G
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	P	P	G	2.2	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-4.3	G
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	P	G	G	0	P

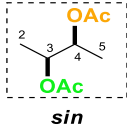
Tabla 45. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **240**.

				Exp./Hz	
<i>J</i>	IV	V	VI		
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	2.9	P
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	5.8	G
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	G	P	P	2.2	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-4.3	G
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	G	G	P	0	P

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-4:

En torno al enlace C3—C4 también se puede identificar un conformero mayoritario, pero no podemos distinguir cuál (Tablas 46 y 47). El valor mediano/grande (6.0 Hz) de $^3J(\text{H3}, \text{H4})$ indica que ambos protones se encuentran en disposición *antiperiplanar*. En cuanto a las constantes heteronucleares vecinales, sus valores pequeños muestran una disposición *sinclinal* de C-2 con respecto a H-4 y de C-5 con respecto a H-3. Por último, los valores grandes de las constantes heteronucleares geminales muestran que el átomo electronegativo (O) está en disposición *sinclinal* a H-3 y a H-4. Todas estas relaciones las cumplen los conformeros **II** y **V** (etiquetas naranjas de las Tablas 46 y 47), tratándose el enlace C3—C4 de un sistema No-Murata.

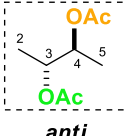
Tabla 46. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C3—C4 de **240**.



sin

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4})$	P	G	P	6.0	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	1.0	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	3.3	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-5.0	G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	P	G	G	-4.4	G

Tabla 47. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C3—C4 de **240**.



anti

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4})$	P	G	P	6.0	M/G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	1.0	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	G	P	P	3.3	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-5.0	G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	G	G	P	-4.4	G

El análisis configuracional realizado permite clasificar los enlaces estudiados de la siguiente manera: el enlace C2—C3 es un sistema Murata, mientras que el enlace C3—C4 es un sistema No-Murata (Figura 104).

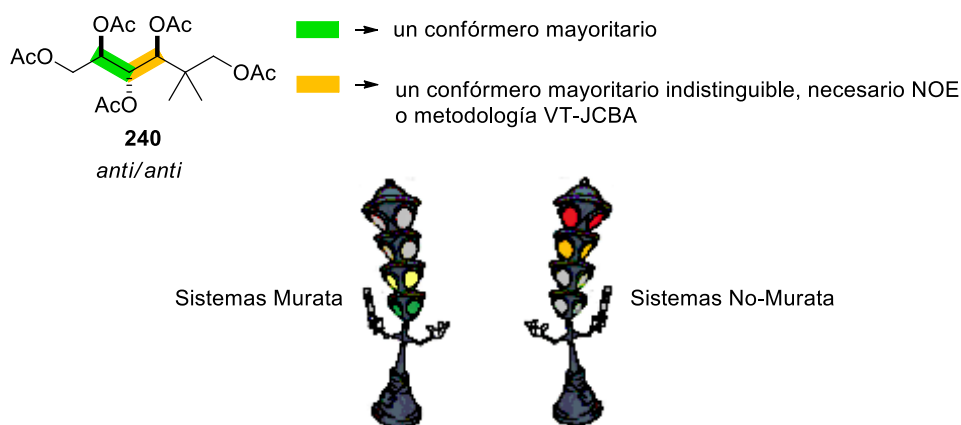


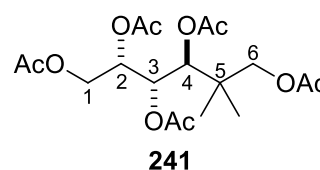
Figura 104. Etiquetas obtenidas para **240** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.6. Análisis configuracional del modelo 1,2-*sin*-2,3-*anti*-O₃ (**241**)

Los datos espectroscópicos de RMN obtenidos para este modelo 1,2,3-O₃, de configuración (2*S*,3*S*,4*S*), son los que se muestran en la Tabla 48.

Tabla 48. Datos espectroscópicos de RMN de ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) del compuesto **241** en CDCl₃.

Carbono	δ _c	δ _H , mult. (<i>J</i> en Hz)
1	62.3	h: 3.81 dd (11.6, 7.2) l: 4.26 dd (11.6, 5.2)
2	68.9	5.33 m
3	69.4	5.51 dd (8.5, 1.8)
4	72.2	5.16 d (8.5)
5	29.7	—
6	69.6	h: 3.73 d (11.2) l: 3.88 d (11.2)
CH₃	20.5	0.97 s
CH₃	20.6	0.98 s



Hl protón que aparece a más ppm. Hl protón que aparece a menos ppm.

Este compuesto no se pudo obtener de forma pura, sin embargo las constantes de acoplamiento homonucleares se pudieron extraer fácilmente de su espectro de RMN de protón, donde H-2 resuena como un multiplete, H-3 como un doble doblete y H-4 como un doblete (Figura 105). Las constantes del protón H-2 se obtuvieron a través de los protones H-3, H-1l y H-1h, ya que su correspondiente señal de desplazamiento se encuentra solapada con la señal Ha* de la impureza (Figura 106).

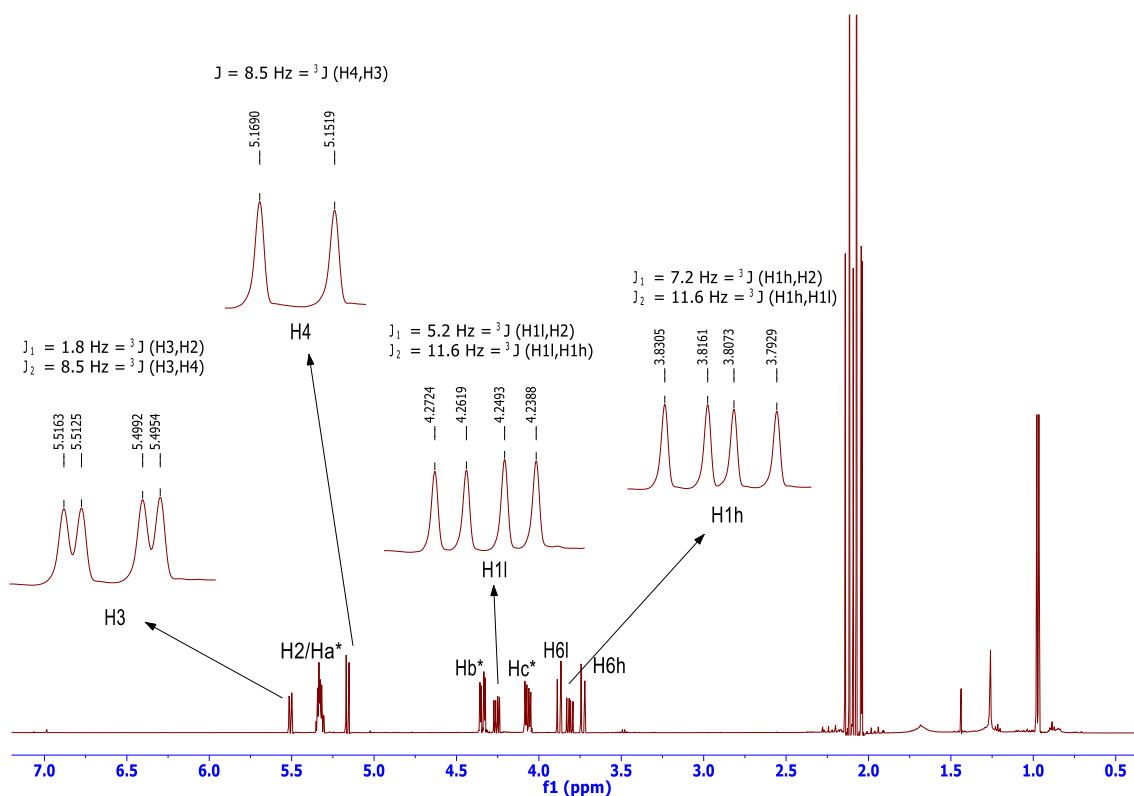


Figura 105. Espectro de RMN ^1H de **241** (500 MHz, CDCl_3) y análisis de las señales de los protones H-3, H-4, H-1l y H-1h.

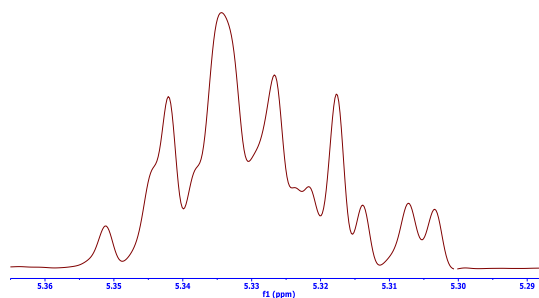


Figura 106. Ampliación de la señal H-2 del espectro de RMN de ^1H de **241** (500 MHz, CDCl_3).

Las constantes heteronucleares C-H fueron obtenidas a partir de los espectros bidimensionales HETLOC y J -HMBC. En la Figura 107 se muestra el espectro J -HMBC en CDCl_3 a 500 MHz y los acoplamientos observados por desdoblamiento en F1 según un factor de escala de 188.

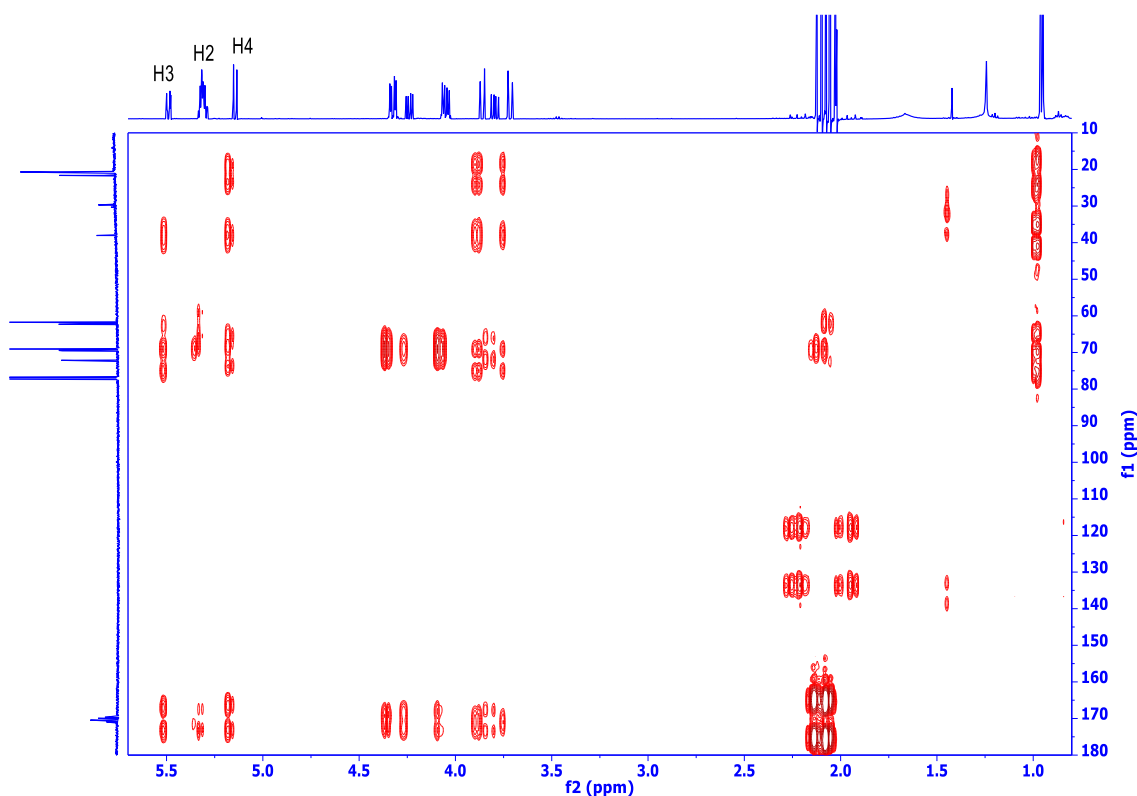
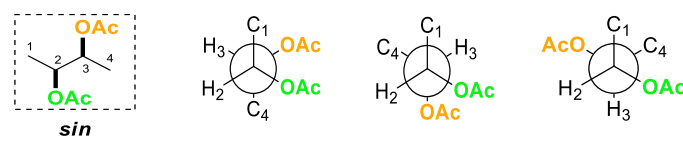


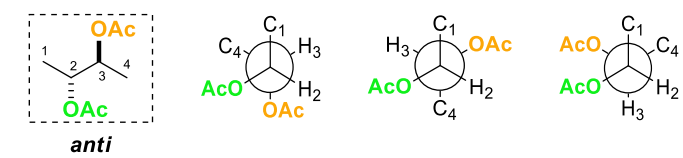
Figura 107. Espectro *J*-HMBC de **241** (500 MHz, CDCl_3) con un factor de escala de 188.

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

En las Tablas 49 y 50 se recogen los valores de las constantes de acoplamiento observados en torno al enlace C2—C3. Los valores pequeños obtenidos para todas ellas, indican que en torno a este enlace hay un conformero mayoritario en el que se encuentran en disposición *sinclinal*: los protones H-3 y H-2; el carbono C-1 y el protón H-3; y el carbono C-4 y el protón H-2. Por otro lado, el valor pequeño de las constantes a dos enlaces de distancia, indica que H-2 y H-3 están en disposición *antiperiplanar* al oxígeno. Todos estos valores los cumple únicamente el conformero I (etiqueta verde de la Tabla 49), confirmando por tanto la configuración relativa *sin* entre las posiciones C-2 y C-3.

Tabla 49. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **241**.


<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	1.8	P
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	1.1	P
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	P	P	G	1.5	P
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-1.6	P
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	P	G	G	-1.5	P

Tabla 50. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **241**.


<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	1.8	P
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	1.1	P
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	G	P	P	1.5	P
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-1.6	P
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	G	G	P	-1.5	P

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-4:

Al igual que ocurría con su diastereoisómero, el compuesto **240**, en torno al enlace C3—C4 existe un conformero mayoritario, pero no puede ser distinguido de forma inequívoca (Tablas 51 y 52). El valor grande (8.5 Hz) observado para $^3J(\text{H3}, \text{H4})$ indica que ambos protones se encuentran en disposición *antiperiplanar*, por tanto sólo los conformeros **II** y **V** pueden estar presentes. En cuanto a las constantes heteronucleares a tres enlaces de distancia, sus valores pequeños indican una disposición *sinclinal* de C-2 con respecto a H-4 y de C-5 con respecto a H-3. Por último, los valores grandes de las constantes heteronucleares a dos enlaces muestran que el átomo electronegativo (O) está en disposición *sinclinal* a H-3 y H-4. Todas estas relaciones las cumplen los conformeros **II** y **V** (etiquetas naranjas de las Tablas 51 y 52), dado que no se pueden diferenciar, el enlace C3—C4 se corresponde con un sistema No-Murata.

Tabla 51. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C3—C4 de **241**.

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4})$	P	G	P	8.5	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	2.7	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-5.4	G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	P	G	G	-4.4	G

Tabla 52. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C3—C4 de **241**.

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4})$	P	G	P	8.5	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	2.3	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	G	P	P	2.7	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-5.4	G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	G	G	P	-4.4	G

El análisis configuracional realizado permite clasificar los enlaces estudiados de la siguiente manera: el enlace C2—C3 es un sistema Murata mientras que el enlace C3—C4 es un sistema No-Murata (Figura 108).

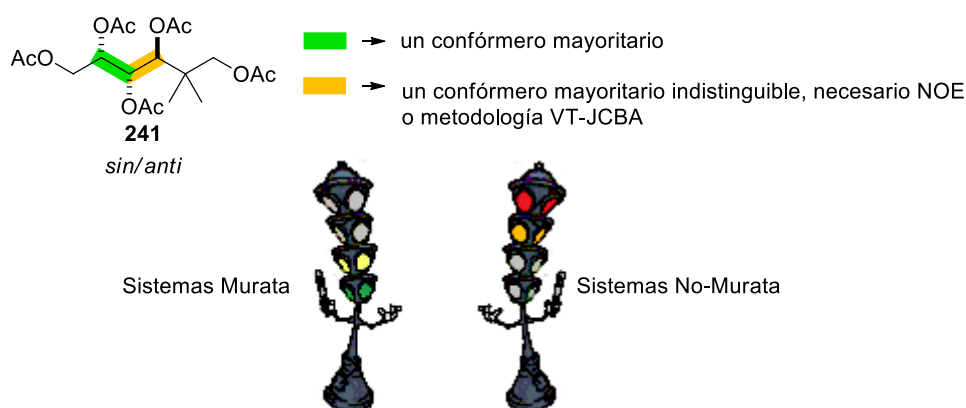


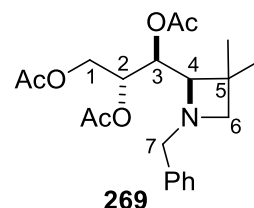
Figura 108. Etiquetas obtenidas para **241** y tipos de sistemas presente en torno a cada enlace.

4.7. Análisis configuracional del modelo 1,2-*anti*-2,3-*sin*-O₂N (269)

Los datos espectroscópicos de RMN de ¹H y de ¹³C del compuesto **269**, de configuración absoluta (2*R*,3*S*,4*R*), se representan en la Tabla 53.

Tabla 53. Datos espectroscópicos de RMN de ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) del compuesto **269** en CDCl₃.

Carbono	δ _C	δ _H , mult. (J en Hz)
1	61.9	h: 4.17 dd (12.1, 8.1) l: 4.42 dd (12.1, 3.1)
2	70.5	5.04 ddd (8.1, 3.1, 3.1)
3	73.5	5.54 dd (10.1, 3.1)
4	71.4	3.01 d (10.1)
5	27.8	—
6	64.9	h: 2.50 d (6.5) l: 2.98 d (6.5)
7	63.3	h: 3.33 d (13.3) l: 3.92 d (13.3)
Ph	128.5, 128.2, 127.9, 126.9	7.28 m
CH₃	20.8	1.39 s
CH₃	20.9	1.15 s



Hl protón que aparece a más ppm. Hh protón que aparece a menos ppm.

Las constantes homonucleares en torno a los enlaces C2—C3 y C3—C4 se obtuvieron de su espectro de RMN de ¹H (Figura 109).

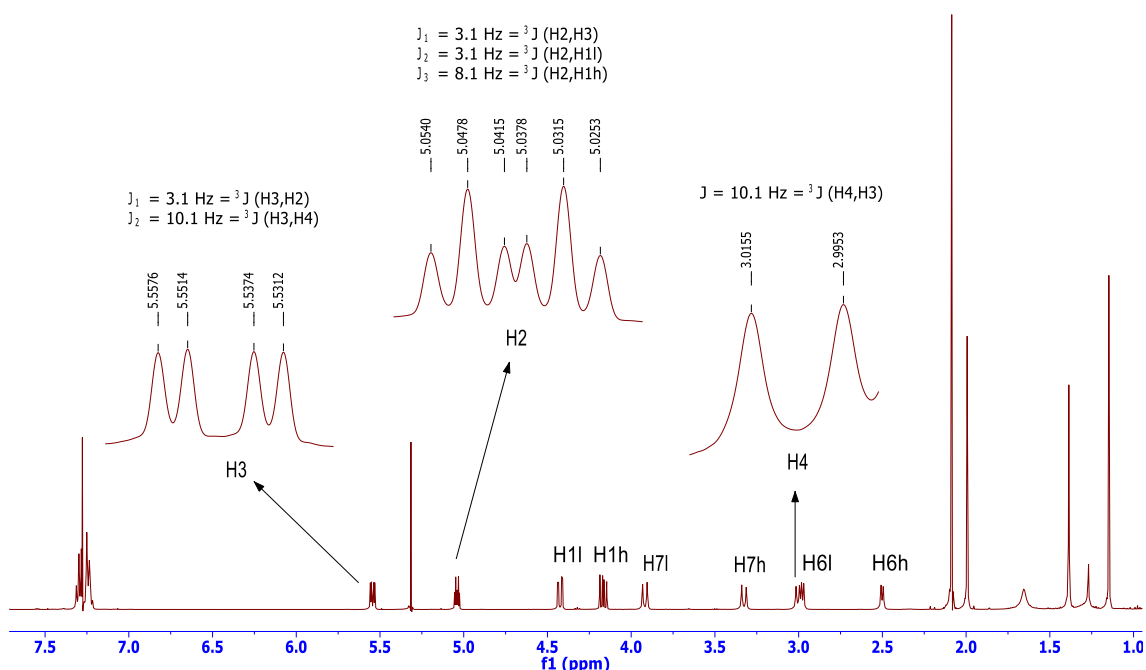


Figura 109. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **269** (500 MHz, CDCl₃) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-4.

Por otro lado, las constantes de acoplamiento heteronucleares a dos y tres enlaces de distancia, se obtuvieron de sus espectros bidimensionales HETLOC y *J*-HMBC. En la Figura 110 se muestra el espectro HETLOC en CDCl₃ a 500 MHz y los acoplamientos observados por desdoblamiento en F1 (escala vertical) de los picos de cruce.

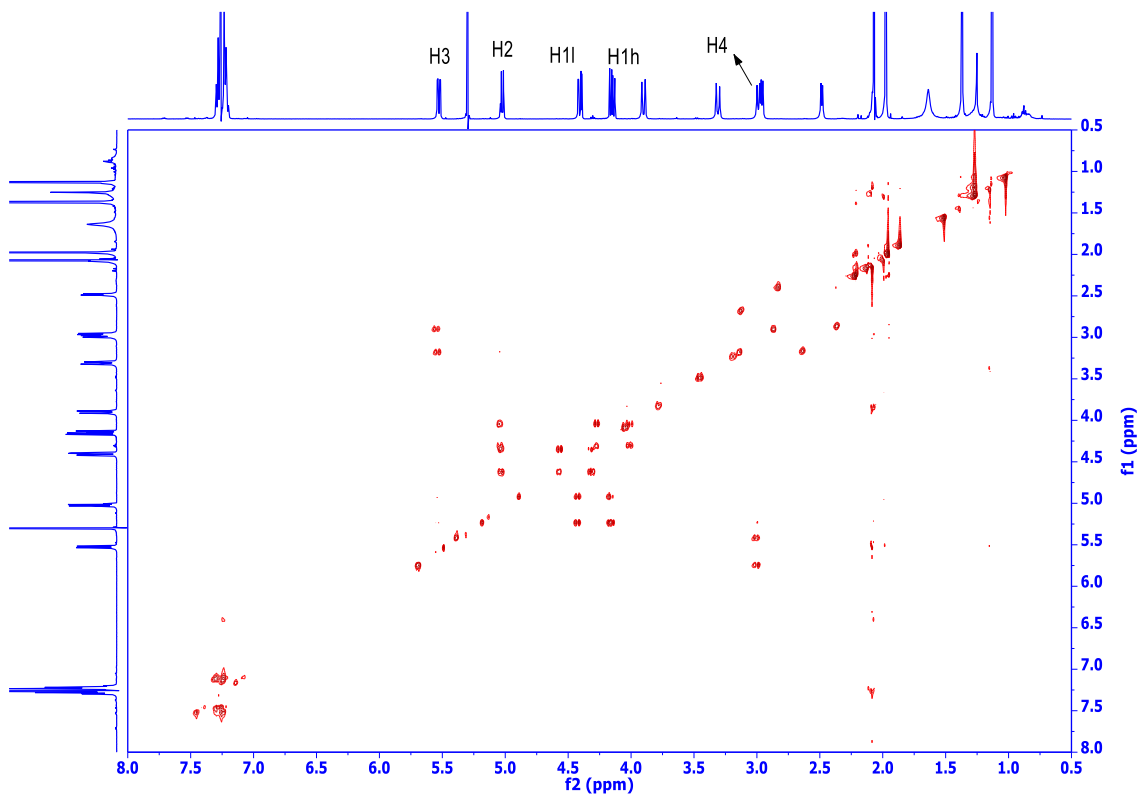
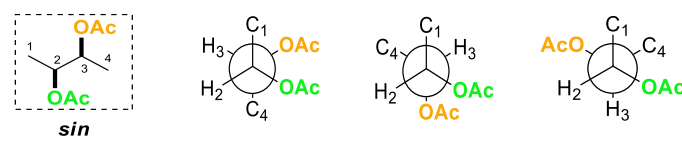


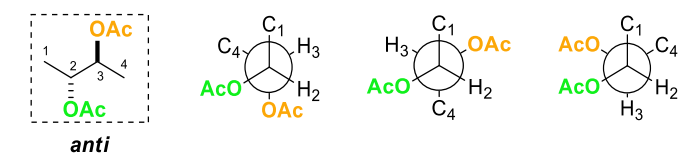
Figura 110. Espectro HETLOC del compuesto **269** (500 MHz, CDCl₃).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

Según los datos experimentales (Tablas 54 y 55), en torno a este enlace existe un conformero mayoritario en el que por un lado, H-2 se encuentra en disposición *sinclinal* a H-3 y a C-4 y en disposición *antiperiplanar* al oxígeno, ya que las constantes observadas son pequeñas, y por otro lado H-3 se encuentra en *antiperiplanar* a C-1 y en *sinclinal* al oxígeno, ya que las constantes observadas son grandes. Todos estos valores son concordantes con los del conformero **VI** (etiqueta verde de la Tabla 55). Resultando por tanto, un sistema que cumple la metodología de Murata y confirma la configuración relativa *anti* entre las posiciones C-2 y C-3.

Tabla 54. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **269**.


<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	3.1	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	5.3	G
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	P	P	G	1.8	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-4.5	M/G
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	P	G	G	-0.8	P

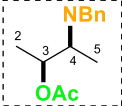
Tabla 55. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **269**.


<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	3.1	P/M
$^3J(\text{C}_1, \text{H}_3)$	P	P	G	5.3	G
$^3J(\text{C}_4, \text{H}_2)$	G	P	P	1.8	P
$^2J(\text{C}_2, \text{H}_3)$	P	G	G	-4.5	M/G
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_2)$	G	G	P	-0.8	P

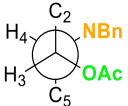
Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-4:

En torno al enlace C3—C4 el conjunto de constantes de acoplamiento (Tablas 56 y 57) indican la existencia de un confórmero mayoritario que no puede ser distinguido de forma inequívoca. El valor grande (10.1 Hz) de $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4)$ indica que ambos protones se encuentran en disposición *antiperiplanar*. En cuanto a las constantes heteronucleares vecinales, sus valores pequeños indican una disposición *sinclinal* de C-2 con respecto a H-4 y de C-5 con respecto a H-3. Por último, los valores medianos/grandes de las constantes heteronucleares geminales muestran que el átomo electronegativo (O) está en disposición *sinclinal* a H-3 y a H-4. Todas estas relaciones las cumplen los confórmeros **II** y **V** (etiquetas naranjas de las Tablas 56 y 57), tratándose el enlace C3—C4 de un sistema No-Murata, ya que los confórmeros no pueden ser distinguidos mediante este análisis configuracional.

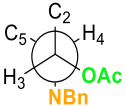
Tabla 56. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C3—C4 de **269**.



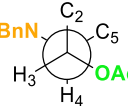
sin



I



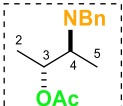
II



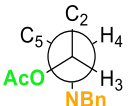
III

<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H3}, \text{H4})$	P	G	P	10.1	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	P	P	G	1.3	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-3.2	M/G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	P	G	G	-4.4	M/G

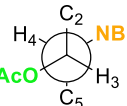
Tabla 57. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C3—C4 de **269**.



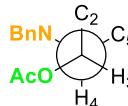
anti



IV



V



VI

<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	10.1	G
$^3J(\text{C2}, \text{H4})$	P	P	G	1.6	P
$^3J(\text{C5}, \text{H3})$	G	P	P	1.3	P
$^2J(\text{C3}, \text{H4})$	P	G	G	-3.2	M/G
$^2J(\text{C4}, \text{H3})$	G	G	P	-4.4	M/G

En resumen, para el compuesto **269** se encontró que el enlace C2—C3 es un sistema Murata, mientras que el enlace C3—C4 es un sistema No-Murata (Figura 111).

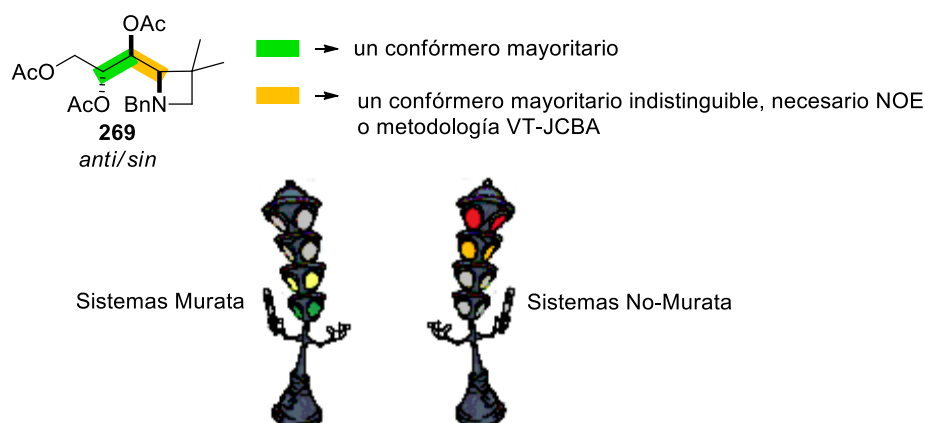


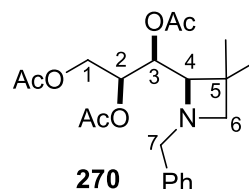
Figura 111. Etiquetas obtenidas para **269** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

4.8. Análisis configuracional del modelo 1,2-*sin*-2,3-*sin*-O₂N (270)

Los datos espectroscópicos de RMN de ¹H y de ¹³C del compuesto **270**, de configuración absoluta (2*S*,3*S*,4*R*) se representan en la Tabla 58.

Tabla 58. Datos espectroscópicos de RMN de ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) del compuesto **270** en CDCl₃.

Carbono	δ _C	δ _H , mult. (J en Hz)
1	64.5	h: 3.95 dd (11.6, 7.2) l: 4.30 dd (11.6, 5.0)
2	69.3	5.15 ddd (7.2, 5.0, 2.1)
3	72.2	5.49 dd (10.1, 2.1)
4	70.4	3.06 d (10.1)
5	33.7	—
6	63.4	h: 2.49 d (6.6) l: 2.97 d (6.6)
7	62.5	h: 3.34 d (13.3) l: 3.93 d (13.3)
Ph	128.8, 128.5, 128.3, 127.6	7.27 m
CH ₃	29.7	1.31 s
CH ₃	27.8	1.04 s



Hl protón que aparece a más ppm. Hh protón que aparece a menos alto.

En la Figura 112 se muestra cómo se obtuvieron las constantes homonucleares a partir del espectro de RMN de ¹H en CDCl₃ a 500 MHz.

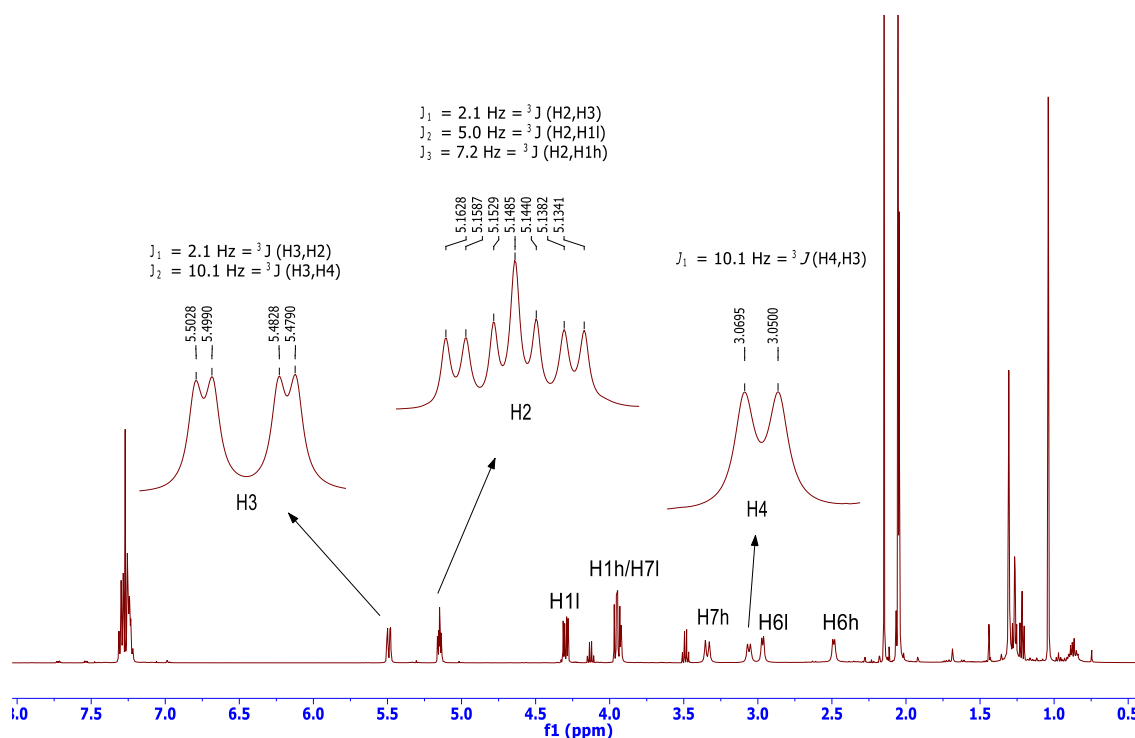


Figura 112. Espectro de RMN de ¹H del compuesto **270** (500 MHz, CDCl₃) y análisis de las señales de los protones H-2, H-3 y H-4.

Por otro lado, las constantes de acoplamiento heteronucleares a dos y tres enlaces de distancia, se obtuvieron de sus espectros bidimensionales HETLOC y *J*-HMBC. En la Figura 113 se muestra el espectro HETLOC del compuesto **270** en CDCl₃ a 500 MHz y los acoplamientos observados por desdoblamiento en F1 (escala vertical) de los picos de cruce.

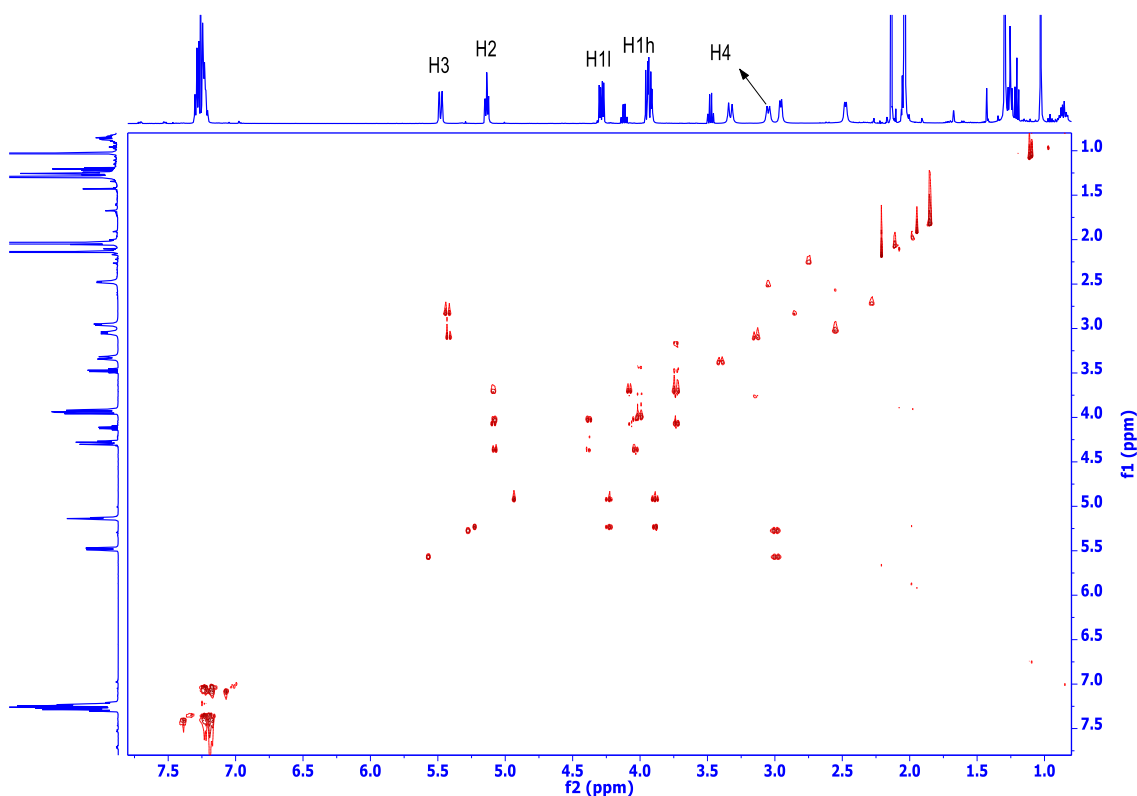
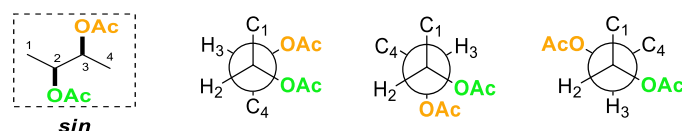


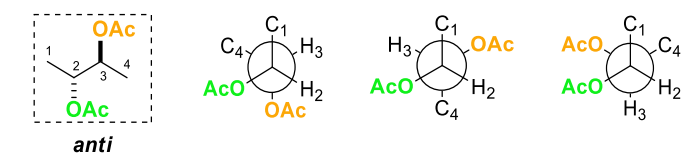
Figura 113. Espectro HETLOC del compuesto **270** (500 MHz, CDCl₃).

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-2 y C-3:

En torno al enlace C2—C3, el conjunto de valores de las constantes homo y heteronucleares permite identificar un conformero mayoritario (Tablas 59 y 60), en el que H-2 se encuentra en disposición *sinclinal* a H-3, *sinclinal* a C-4 y *antiperiplanar* al oxígeno, y H-3 se encuentra en disposición *sinclinal* a C-1 y *antiperiplanar* al oxígeno, debido a que todas las constantes de acoplamiento mostraron valores pequeños. Estas condiciones tan sólo las cumple el conformero **I** (etiqueta verde de la Tabla 59), confirmando la configuración relativa *sin* de las posiciones C-2 y C-3.

Tabla 59. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C2—C3 de **270**.


<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	2.1	P
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	1.7	P
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	P	P	G	1.7	P
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-1.5	P
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	P	G	G	-1.7	P

Tabla 60. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C2—C3 de **270**.


<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H2}, \text{H3})$	P	G	P	2.1	P
$^3J(\text{C1}, \text{H3})$	P	P	G	1.7	P
$^3J(\text{C4}, \text{H2})$	G	P	P	1.7	P
$^2J(\text{C2}, \text{H3})$	P	G	G	-1.5	P
$^2J(\text{C3}, \text{H2})$	G	G	P	-1.7	P

Estereoquímica relativa en torno a los carbonos C-3 y C-4:

Al igual que ocurría con su diastereoisómero (compuesto **269**), el análisis configuracional en torno al enlace C3—C4, muestra la existencia de un conformero mayoritario que puede tratarse del conformero **II** ó el **V**, ya que son indistinguibles (etiquetas naranjas de las Tablas 61 y 62), por lo que el enlace C3—C4 se trata de un sistema que no cumple la metodología de Murata.

Tabla 61. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *sin* en torno al enlace C3—C4 de **270**.

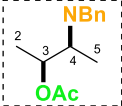
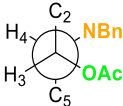
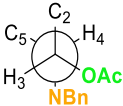
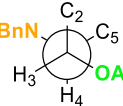
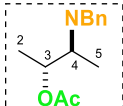

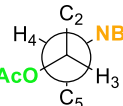
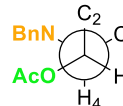
 <i>sin</i>					
<i>J</i>	I	II	III	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_3, \text{H}_4)$	P	G	P	10.1	G
$^3J(\text{C}_2, \text{H}_4)$	P	P	G	1.9	P
$^3J(\text{C}_5, \text{H}_3)$	P	P	G	2.1	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_4)$	P	G	G	-4.8	G
$^2J(\text{C}_4, \text{H}_3)$	P	G	G	-4.4	G

Tabla 62. Constantes de acoplamiento homo y heteronucleares para la configuración *anti* en torno al enlace C3—C4 de **270**.

 <i>anti</i>					
<i>J</i>	IV	V	VI	Exp./Hz	
$^3J(\text{H}_2, \text{H}_3)$	P	G	P	10.1	G
$^3J(\text{C}_2, \text{H}_4)$	P	P	G	1.9	P
$^3J(\text{C}_5, \text{H}_3)$	G	P	P	2.1	P
$^2J(\text{C}_3, \text{H}_4)$	P	G	G	-4.8	G
$^2J(\text{C}_4, \text{H}_3)$	G	G	P	-4.4	G

Por tanto, el compuesto **270** mostró para el enlace C2—C3 un sistema Murata, mientras que el enlace C3—C4 resultó ser un sistema No-Murata (Figura 114).

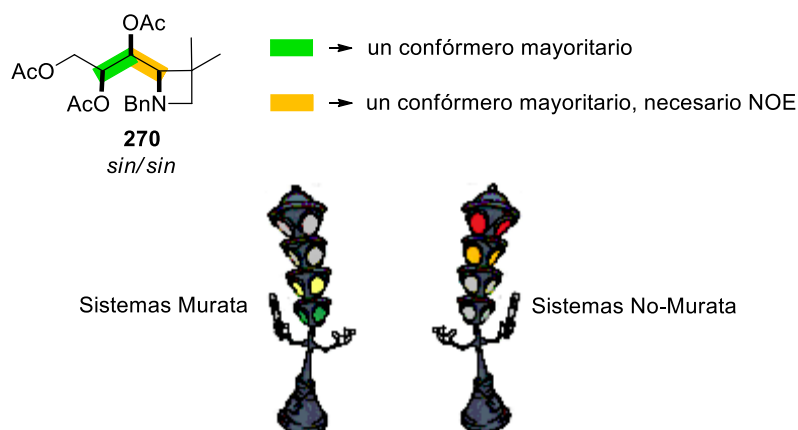


Figura 114. Etiquetas obtenidas para **270** y tipos de sistemas presentes en torno a cada enlace.

5. RESOLVIENDO SISTEMAS NO-MURATA

En resumen, se han estudiado 8 modelos con un total de 20 sistemas C—C, de los cuales 12 son sistemas dimetínicos y 8 son sistemas metino-metileno, encontrándose seis sistemas en los que no se puede determinar la estereoquímica relativa por la metodología de Murata, es decir, seis sistemas No-Murata (Figura 115).

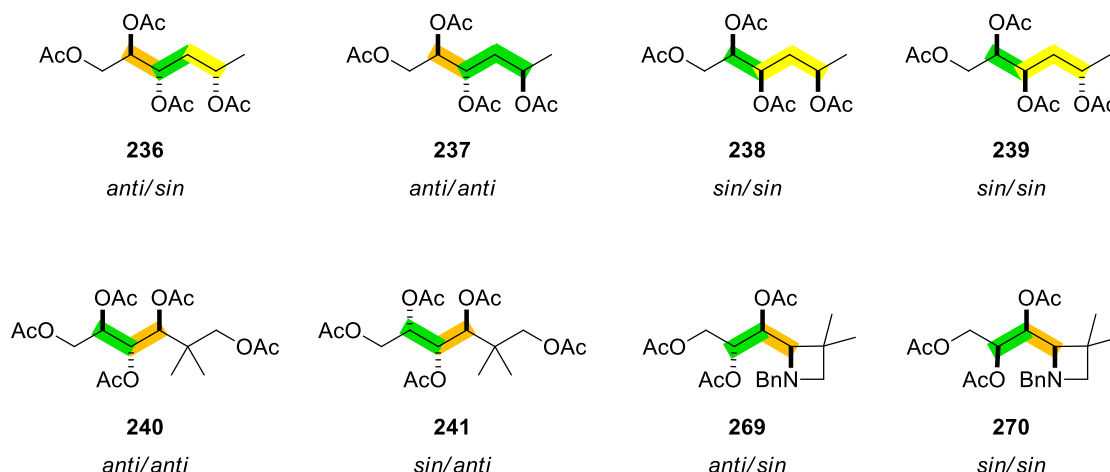


Figura 115. Configuraciones relativas obtenidas para los compuestos **236-241**, **269** y **270** y tipo de sistema presente en torno a cada enlace.

Al no disponer de datos de NOE adicionales y como prueba de concepto, se llevó a cabo el análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable (VT-JCBA), con el fin de corroborar esta metodología.

Nos hemos encontrado con dos casos diferentes de etiquetas indistinguibles:

a) Un primer caso, encontrado en torno al enlace C2—C3 de los compuestos **236** y **237**, en el que se observa un equilibrio entre los confórmeros con disposición *sinclinal* entre H-2 y H-3. En estos casos, para poder deducir la estereoquímica relativa se necesita saber cuál es el rotámero mayoritario. Con este propósito, **al disminuir la temperatura** se debería producir una variación en los valores de las constantes de acoplamiento debido al cambio de población relativa de los confórmeros en equilibrio hacia el más estable. Esa modificación de las constantes de acoplamiento nos permitiría deducir qué rotámero sería el que empieza a ser predominante en el equilibrio, conduciéndonos a poder asignar la estereoquímica relativa del fragmento C—C de estudio. La estrategia clave de este método se aplica a aquellas constantes que a temperatura ambiente presentan valores medianos (M), observando la tendencia de transformarse en valores más grandes o más pequeños (en valor absoluto) **a baja temperatura**.

b) Un segundo caso, encontrado en torno al enlace C3—C4 de los compuestos **240**, **241**, **269** y **270**, en el que se observa la presencia de un confórmero mayoritario, con disposición *antiperiplanar* entre H-3 y H-4, pero con etiquetas indistinguibles para la

configuración relativa *sin* o *anti* (confórmeros **II** o **V**). En estos casos, las medidas de las constantes a baja temperatura no serían de utilidad, porque a temperatura ambiente ya existe un único confórmero, pero **al aumentar la temperatura** debería aparecer un segundo confórmero en equilibrio con el más estable a temperatura ambiente, lo que produciría una variación en los valores de las constantes de acoplamiento. La clave de este método, como en el caso de baja temperatura, será observar la tendencia de los valores de las constantes de acoplamiento en transformarse en más grandes o más

A continuación se muestra el procedimiento para resolver los sistemas No-Murata.

5.1. Sistemas No-Murata: resolución de la configuración relativa mediante el método VT-JCBA a baja temperatura

Como modelo se explica su aplicación en el compuesto **237**, que en torno al enlace C2—C3 presenta la misma etiqueta para la configuración *sin* y *anti*: PMMMM.

Se realizaron los experimentos de RMN de ^1H , HSQC-HECADE y J -HMBC a baja temperatura con el fin de observar la tendencia que siguen los valores medianos de las constantes de acoplamiento, y poder resolver su estereoquímica relativa. Se utilizó tolueno como disolvente deuterado, ya que tiene un punto de fusión de $-95\text{ }^\circ\text{C}$, permitiéndonos un amplio margen para bajar la temperatura.

En la Figura 116 se muestra el experimento de RMN de ^1H a diferentes temperaturas, donde se observa como la constante $^3J(\text{H2},\text{H3})$ disminuye de valor al disminuir la temperatura.

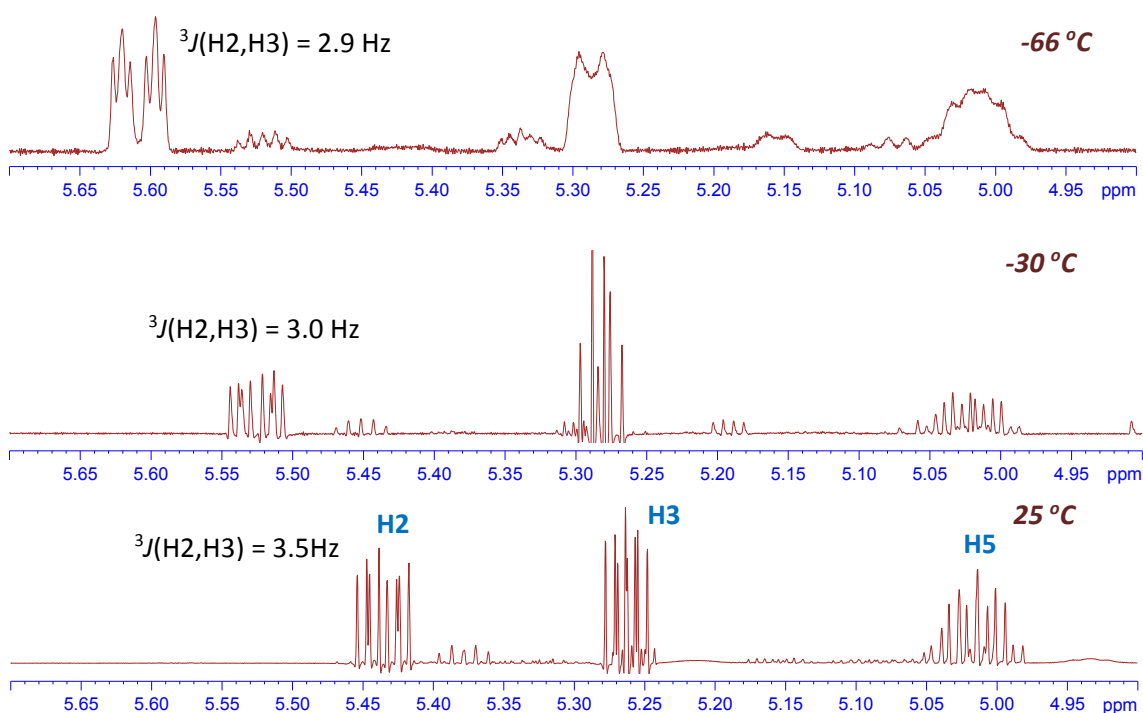


Figura 116. Espectros de RMN de ^1H de **237** (500 MHz, C_7D_8) a diferentes temperaturas.

Por otro lado, el experimento HSQC-HECADE a baja temperatura mostró, tal y como se muestra en las Figuras 117 y 118, que la constante vecinal $^3J(\text{C4},\text{H2})$ disminuye de valor al disminuir la temperatura (de +2.8 a +1.3 Hz), mientras que la constante geminal $^2J(\text{C2},\text{H3})$ aumenta en valor absoluto al disminuir la temperatura (de -2.8 a -4.2 Hz). Por otro lado, la constante $^2J(\text{C3},\text{H2})$ disminuye en valor absoluto, mientras que el valor de $^3J(\text{C1},\text{H3})$ aumenta al disminuir la temperatura. Por tanto, se observa como los valores medianos de las constantes de acoplamiento se hacen más grandes o más pequeños a medida que baja la temperatura.

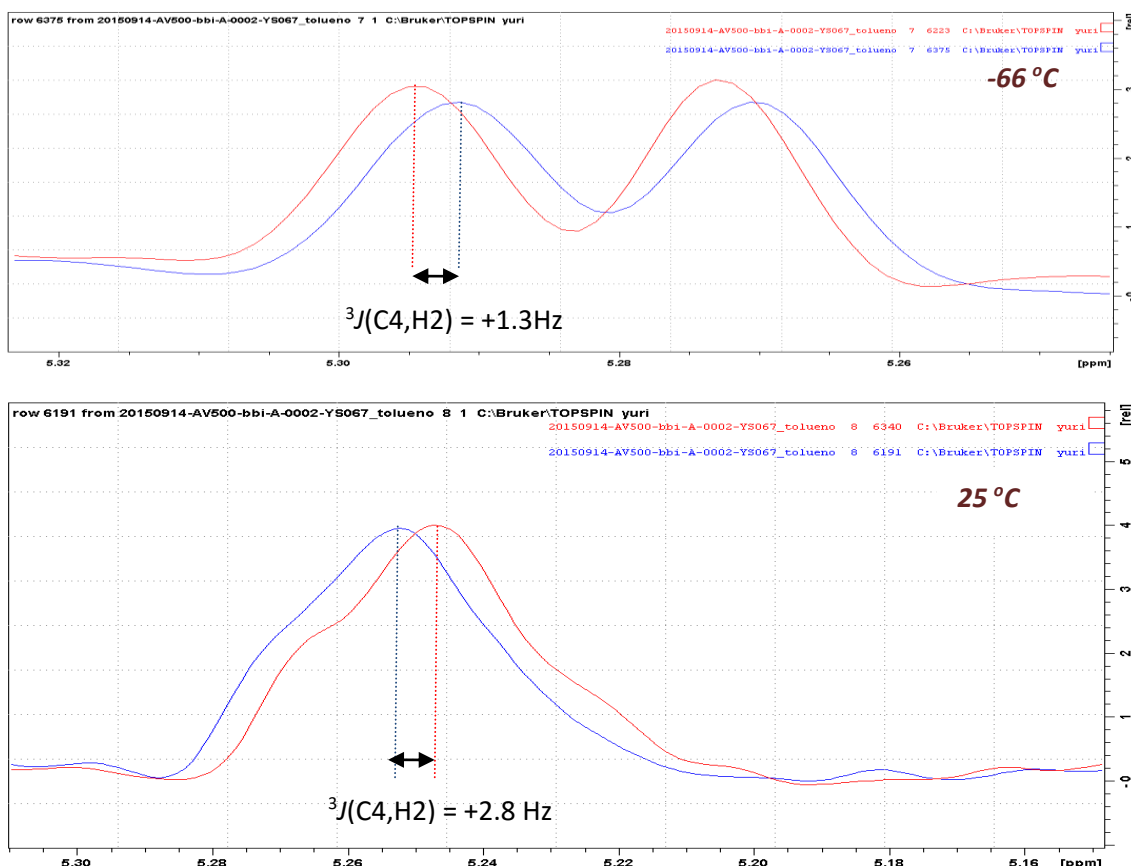


Figura 117. Constante de acoplamiento $^3J(\text{C4},\text{H2})$ observada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (inferior) y a $-66\text{ }^{\circ}\text{C}$ (superior), obtenida del espectro HSQC-HECADE de **237** (500 MHz, C_7D_8).

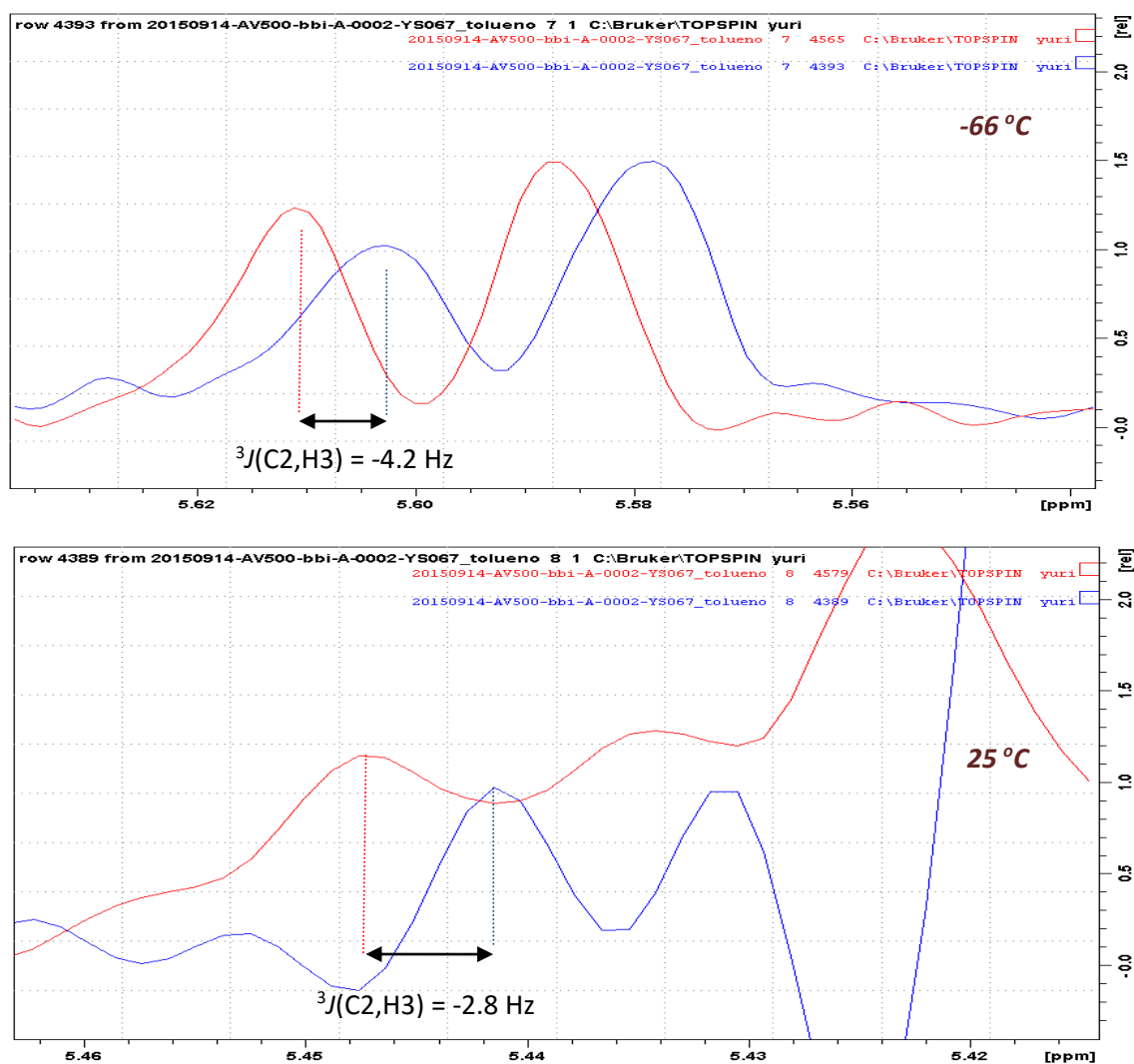
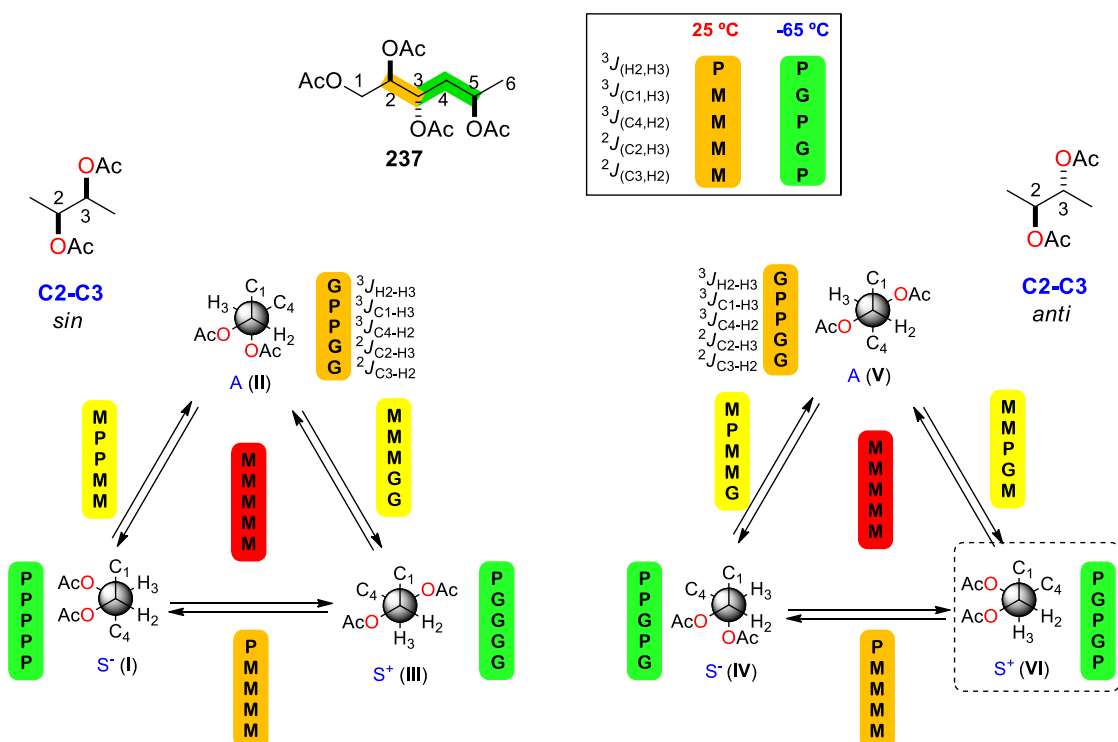


Figura 118. Constante de acoplamiento $^3J(C2,H3)$ observada a 25 °C (inferior) y a -66 °C (superior), obtenida del espectro HSQC-HECADE de **237** (500 MHz, C_7D_8).

Teniendo en cuenta estas tendencias, se puede afirmar que el conformero mayoritario en torno al enlace C2—C3 es el **VI**, ya que la nueva etiqueta obtenida es: PGPGP (etiqueta verde) y por tanto, la configuración en torno al enlace C2—C3 es *sin* (Esquema 113).



Esquema 113. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable en torno al enlace C2—C3 del compuesto **237**.

Teniendo en cuenta que la configuración resultante coincide con la predicha experimentalmente, este resultado permite corroborar la metodología de baja temperatura.

5.2. Sistemas No-Murata: resolución de la configuración relativa mediante el método VT-JCBA a alta temperatura

Como modelo se explica su aplicación en el compuesto **240**.

Se realizaron los experimentos de RMN de ^1H , HSQC-HECADE y J-HMBC a alta temperatura (Figuras 119, 120 y 121) con el fin de comprobar si al aumentar la temperatura se puede llegar a la resolución de la estereoquímica relativa. Se utilizó DMSO- D_6 como disolvente deuterado, porque da un amplio margen para subir la temperatura.

En la Figura 119 se muestra la comparación de los espectros de RMN de ^1H a temperatura ambiente (25 °C) y a alta temperatura (95 °C). Como se puede observar, el valor de la constante de acoplamiento homonuclear $^3J(\text{H3},\text{H4})$ disminuye a medida que aumenta la temperatura.

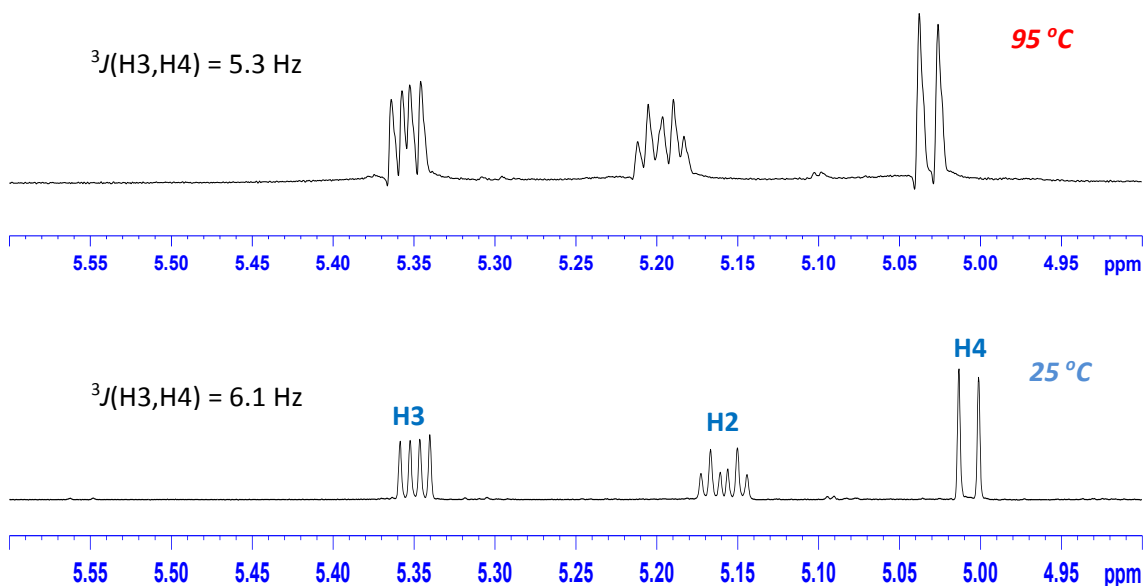


Figura 119. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **240** (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): inferior a 25 °C y superior a 95 °C.

En cuanto a las constantes de acoplamiento heteronucleares, al realizar los experimentos J -HMBC a 25 °C (curvas azules en la Figura 120) y a 95 °C (curvas rojas en la Figura 120), se observó como la constante vecinal $^3J(\text{C5},\text{H3})$ y la constante geminal $^2J(\text{C4},\text{H3})$ disminuyen en valor absoluto a medida que aumenta la temperatura.

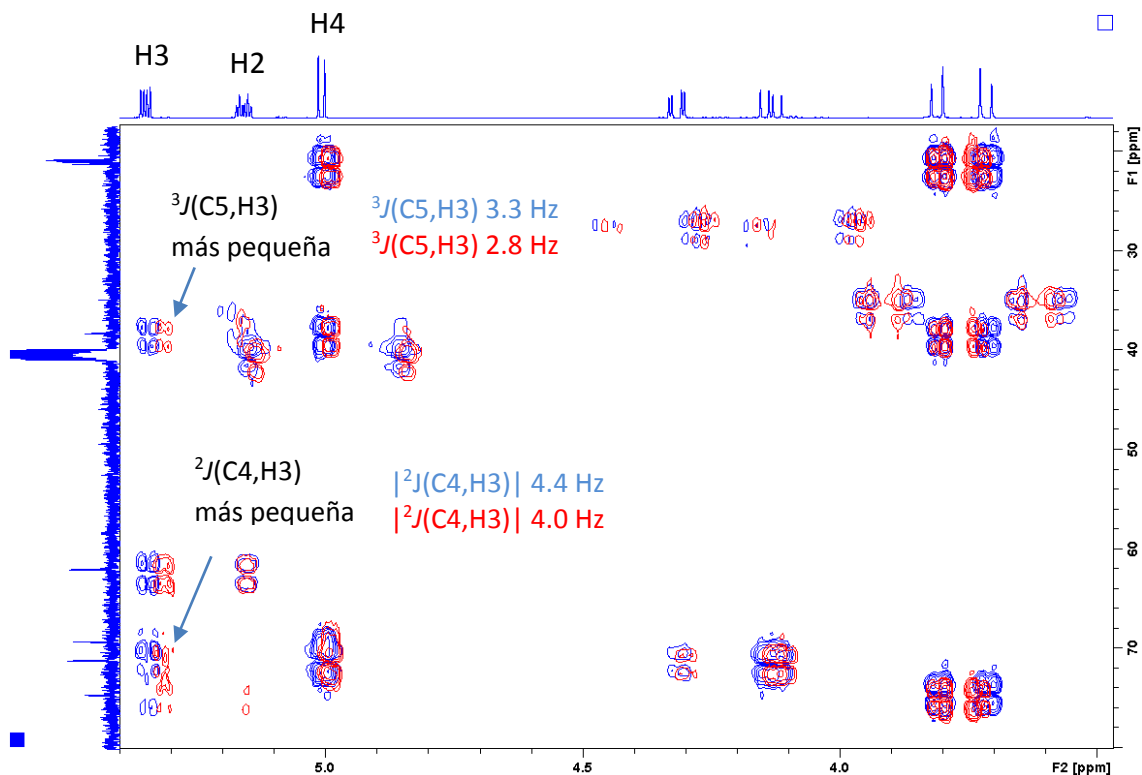


Figura 120. Espectro J -HMBC del compuesto **240** (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) con un factor de escala de 85: azul a 25 °C y rojo a 95 °C.

Por otro lado, el experimento HSQC-HECADE mostró como el valor de $^2J(\text{C3},\text{H4})$ aumenta al realizar el espectro a mayor temperatura (Figura 121).

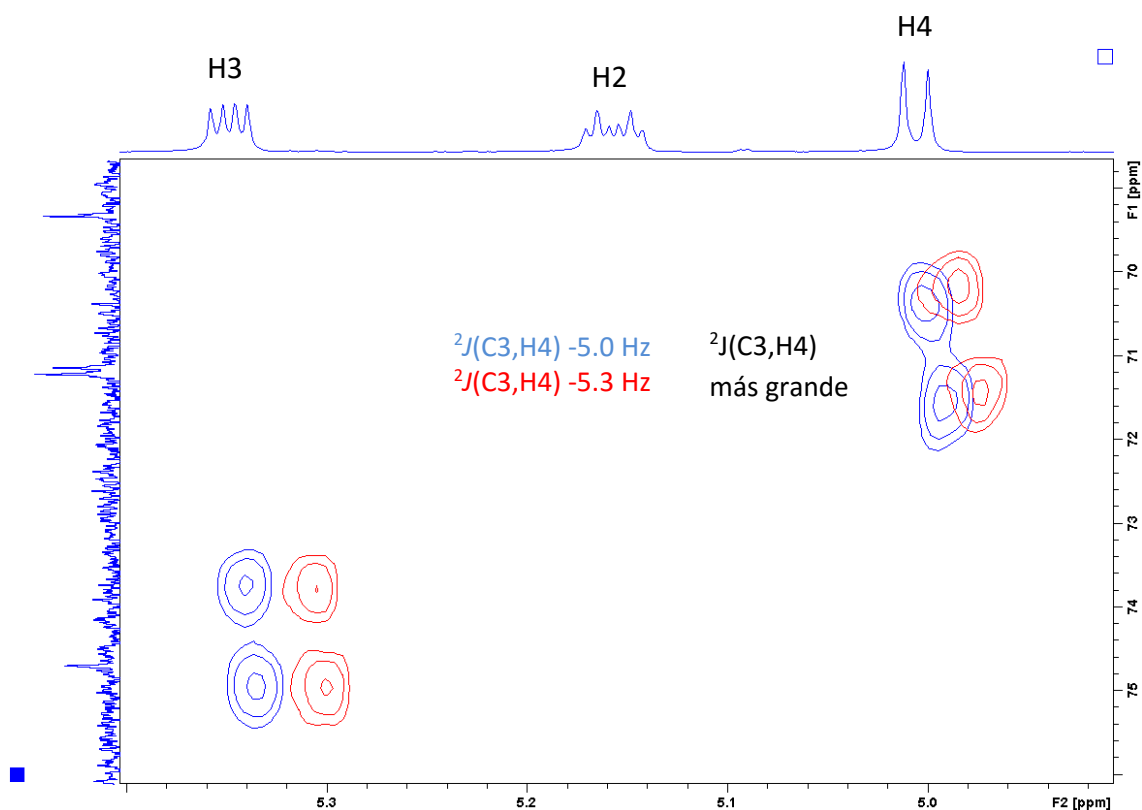
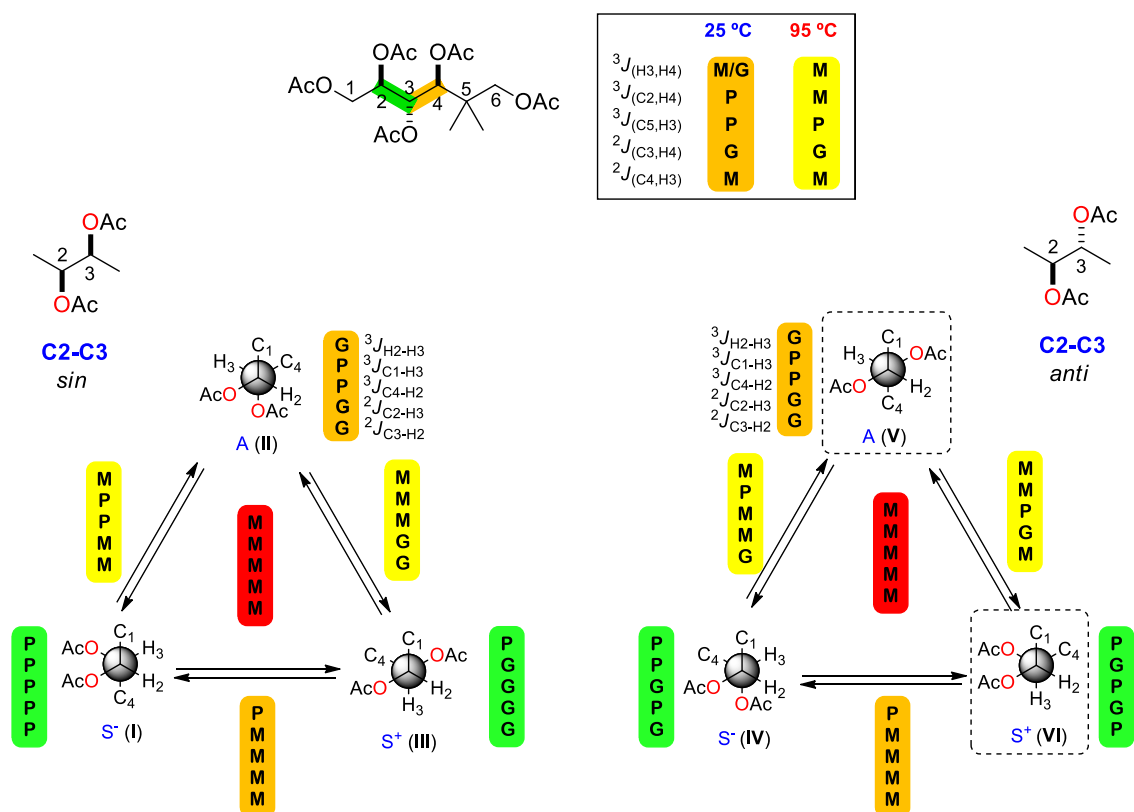


Figura 121. Ampliación del espectro HSQC-HECADE del compuesto **240** (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): azul a 25 °C y rojo a 95 °C.

Teniendo en cuenta estas tendencias, la nueva etiqueta obtenida sería MMPGM, lo que sugiere la aparición del conformero **VI** en equilibrio con el conformero **V** (Esquema 114). Al observarse la presencia de este equilibrio, se puede concluir que existe una configuración relativa *anti* en torno al enlace C3—C4, que coincide con la predicha por síntesis para **240**.



Esquema 114. Análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable en torno al enlace C2—C3 del compuesto **240**.

De esta forma se demuestra que las variaciones en los valores de las constantes de acoplamiento por efecto de elevación de la temperatura permiten resolver la estereoquímica relativa en torno a dicho enlace.

6. CONCLUSIONES

✓ Se ha llevado a cabo la síntesis de seis compuestos acíclicos con tres centros asimétricos oxigenados en disposiciones relativas 1,3 (**236-239**) y 1,2 (**240** y **241**), y de otros dos compuestos con tres centros asimétricos en disposición 1,2,3 en los que uno de los sustituyentes está nitrogenado (**269** y **270**).

✓ Se ha realizado el análisis configuracional de los 20 sistemas presentes en los ocho compuestos sintetizados de acuerdo con la metodología propuesta por Murata, con el fin de buscar sistemas que no se pueda resolver su estereoquímica relativa mediante esta metodología, llegando a los siguientes resultados:

- Nueve sistemas Murata en los que está presente un único confórmero (representados como etiquetas verdes). Estos sistemas se encontraron en los compuestos **236** (enlace C3—C4), **237** (enlace C3—C4 y C4—C5), **238** (enlace C2—C3), **239** (enlace C2—C3), **240** (enlace C2—C3), **241** (enlace C2—C3), **269** (enlace C2—C3) y **270** (enlace C2—C3) y su estereoquímica relativa coincidió con la establecida previamente por síntesis.
- Cinco sistemas Murata en los que está presente un equilibrio entre dos confórmeros (representados como etiquetas amarillas). Estos sistemas se encontraron en los modelos **236** (enlace C4—C5), **238** (enlaces C3—C4 y C3—C4), **239** (enlaces C3—C4 y C3—C4), coincidiendo su estereoquímica relativa con la establecida por síntesis.
- Dos sistemas No-Murata en los que está presente un equilibrio entre dos confórmeros indistinguibles (representados como etiquetas naranjas). Estos sistemas se han encontrado en los modelos **236** (enlace C2—C3) y **237** (enlace C2—C3) y su estereoquímica relativa se puede deducir realizando experimentos a baja temperatura y comparándolos con los obtenidos a temperatura ambiente.
- Cuatro sistemas No-Murata en los que está presente un único confórmero indistinguible entre las configuraciones *sin* y *anti* (representados como etiquetas naranjas). Estos sistemas, se encontraron en los modelos **240** (enlace C3—C4), **241** (enlace C3—C4), **269** (enlace C3—C4) y **270** (enlace C3—C4) y su estereoquímica relativa se puede deducir realizando experimentos a alta temperatura y comparándolos con los obtenidos a temperatura ambiente.

✓ Se ha empleado el método de variación de temperatura en el modelo **236** para determinar la estereoquímica del enlace C2—C3, y en el modelo **240** para determinar la estereoquímica del enlace C3—C4, coincidiendo en ambos casos con la establecida

previamente por síntesis. Estos resultados permiten corroborar la nueva metodología del análisis configuracional basado en las constantes de acoplamiento a temperatura variable.

Capítulo V

Parte Experimental

CAPÍTULO V

PARTE EXPERIMENTAL

1. Metodología General

Todas aquellas reacciones que requirieron condiciones anhidras se realizaron bajo atmósfera de argón desoxigenado seco (Argón C-50) con agitación magnética y a temperatura ambiente, salvo que se indique lo contrario. Las reacciones a baja temperatura se realizaron empleando baños de hielo/agua para alcanzar 0 °C, o baños de metanol empleando una sonda de refrigeración Cryocool-Inmersion Cooler CC-100 II de Neslab, para alcanzar temperaturas más bajas. Las reacciones de hidrogenación se realizaron empleando metanol o etanol bajo atmósfera de hidrógeno (H₂ Premier X50S) con agitación magnética a temperatura ambiente y una leve presión de hidrógeno.

Los disolventes utilizados se purificaron y secaron según los procedimientos descritos,²¹⁷ y se destilaron inmediatamente antes de su uso por calentamiento a reflujo en atmósfera de argón sobre un agente desecante adecuado. Los agentes desecantes utilizados fueron: Na/benzofenona para THF, Et₂O y tolueno; CaH₂ para CH₂Cl₂, CHCl₃, y CH₃CN; Mg/I₂ para MeOH y EtOH y CaSO₄ para acetona. La DMF y la Py se destilaron a vacío y se guardaron sobre tamices moleculares Sieves 4Å y bajo argón. Salvo indicación contraria, los demás reactivos y disolventes son comerciales y se utilizaron sin purificar.

²¹⁷ Perrin, D.; Armarego, W.L.F. *Purification of Laboratory Chemicals*. 3rd Edition. Pergamon Press. **1988**.

Los disolventes se añadieron con jeringas o microjeringas, según sea el volumen a añadir.

El avance de las reacciones fue seguido por cromatografía en capa fina (ccf) y se emplearon cromatoplasas de gel de sílice Merck 60 F254. Las manchas se visualizaron por exposición a la luz UV ($\lambda=254$ nm o 366 nm) para los compuestos que absorben a dichas longitudes de onda, o por revelado al calor tras la inmersión de la capa fina con el revelante adecuado y posterior calentamiento. Los revelantes usados fueron [6.05 g de $\text{H}_3\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}\text{P}\cdot\text{H}_2\text{O}$ en MeOH (100 mL, 95%)], *p*-anisaldehído [(4.2 mL) en AcOH (3.75 mL), EtOH (338 mL, 95%) y H_2SO_4 (12.5 mL)], molibdato cérico amónico, vapores de I_2 y ninhidrina.²¹⁸

La cromatografía en columna se realizó en columna de vidrio, según las indicaciones de Still,²¹⁹ utilizando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60 (0.040-0.063 mm) con disolventes previamente destilados.

Las separaciones mediante cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) se realizaron empleando los equipos: Agilent HP1200 equipado con un desgasificador para el disolvente, una bomba cuaternaria y un detector DAD (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) y Agilent HP1100 equipado con un desgasificador para el disolvente, una bomba cuaternaria, un detector de UV y un detector de índice de refracción (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania).

Las columnas analíticas de HPLC empleadas fueron: Atlantis® dC18 (100 x 4.6 mm, 5 μm), Discovery® HS-F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm) y Eclipse® XDB-C18 (150 x 4.6 mm, 5 μm). Las columnas semipreparativas de HPLC empleadas fueron: Atlantis® Prep dC18 (100 x 10 mm, 5 μm), Discovery® HS-F5 (250 x 10 mm, 5 μm) y Eclipse® XDB-C18 (300 x 10 mm, 5 μm). Los disolventes utilizados fueron de grado HPLC.

Los productos finales de las síntesis descritos en el Capítulo II se purificaron por cromatografía de HPLC en fase reversa para su posterior envío a bioensayos. Los ensayos biológicos de estos compuestos fueron realizados por el grupo de microbiología de la Universidad de Santiago de Compostela.

Las rotaciones ópticas de los compuestos quirales se midieron en un polarímetro digital JASCO DIP-1000, con lámpara y filtro de sodio ($\lambda = 589$ nm), con una celda de 100 mm y realizando integrales de 20 segundos en 3 ciclos con un intervalo de 30 segundos. Las concentraciones se expresan en g/100 mL, y el disolvente se indica en cada caso.

²¹⁸ Harwood, L. M.; Moody, C. J.; Percy, J. M. *Experimental Organic Chemistry*, Ed. Blackwell Science, Oxford: 1999.

²¹⁹ Still, W. C.; Hahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2927.

Los espectros de dicroísmo circular (CD) se registraron en un espectropolarímetro J-715 de *los Servicios de Apoyo á Investigación de la Universidade da Coruña* (SAI), a temperatura ambiente, utilizándose cubetas de 1 mm y metanol como disolvente.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se realizaron en el espectrómetro Varian Mercury (200 MHz para ^1H y 50 MHz para ^{13}C) y en los *Servicios de Apoyo á Investigación* de la Universidade da Coruña (SAI), que se registraron en los espectrómetros Bruker AC 300 F (300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C), Bruker AMX 500 (500 MHz para ^1H y 125 MHz para ^{13}C) equipado con una criosonda o bbi. Los disolventes deuterados utilizados fueron los siguientes: CDCl_3 (99.8% D), CD_2Cl_2 (99.9% D), CD_3OD (99.8% D), D_2O (99.9% D), C_6D_6 (99.5% D), C_7D_8 (99.5% D) y $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (99.9% D).

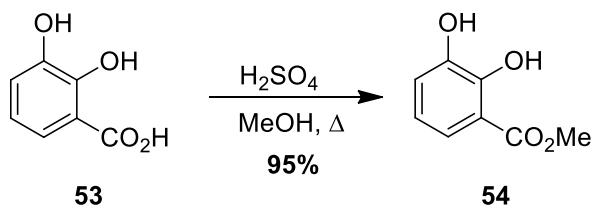
Los desplazamientos químicos fueron determinados en la escala δ en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento en Hz. Las multiplicidades de las señales de ^{13}C fueron determinadas mediante experimentos DEPT-135, DEPT-90 o experimentos 2D HSQC. Los experimentos COSY se adquirieron con 128 scans por valor de t_1 , con un t_1 max de 39 ms. Los experimentos J -HMBC se adquirieron con 16 scans con 100 ó 200 incrementos y 2K puntos en F2, y fueron transformados mediante “zero filling” en F1 (2K) y ventana sinusoidal en ambas dimensiones. Los experimentos HETLOC se adquirieron con 32 scans con 256 incrementos usando 4K puntos en F2 y usando un tiempo de mezcla de 40-75 ms. Fueron transformados mediante doble “zero filling” en F1 (4K), y aplicación de ventana sinusoidal en ambas dimensiones.

Los espectros de masas electrospray (ESI) fueron realizados en un equipo Qstar-QqTOF Tandem Hybrid System con fuente de ESI de Applied BioSystems.

2. Compuestos obtenidos en el Capítulo II

2.1 Síntesis de los análogos de acinetobactina desmetilados (47-50)

Síntesis de 2,3-dihidroxibenzoato de metilo (54)



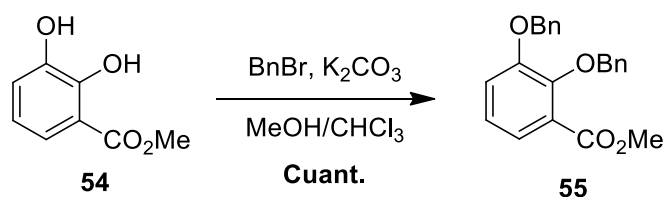
Sobre una disolución de ácido 2,3-dihidroxibenzoico (**53**) comercial (4.00 g, 25.90 mmol) en MeOH (80 mL), se añadió H₂SO₄ (1.60 mL, 29.80 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo durante 24 h. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se neutralizó con K₂CO₃. Una vez a pH 7 se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se distribuyó entre EtOAc (100 mL) y H₂O (150 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se lavó con EtOAc (100 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una disolución saturada de NaCl, se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida recogiendo 3.80 g (rendimiento del 95%) de 2,3-dihidroxibenzoato de metilo (**54**) como un sólido amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 7.36 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H, H-6); 7.11 (dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 1H, H-4); 6.79 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H-5); 3.95 (s, 3H, OCH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 170.9 (CO, C-7); 148.9 (C, C-2); 145.2 (C, C-3); 120.7 (CH, C-4); 119.9 (CH, C-5); 119.6 (CH, C-6); 112.5 (C, C-1); 52.6 (CH₃, OCH₃).

(+)-LR-ESIMS m/z : 169.05 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 169.0488 [M+H]⁺ (calculada para C₈H₉O₄: 169.0495).

Síntesis de 2,3-bis(benciloxi)benzoato de metilo (55)

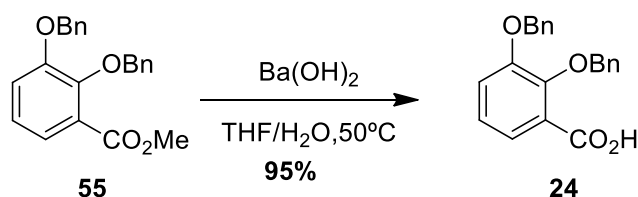
Sobre una disolución del éster **54** (1.50 g, 8.90 mmol) en una mezcla 1:2 MeOH/CHCl₃ (100 mL), se añadió carbonato potásico (9.80 g, 71.40 mmol) y bromuro de bencilo (3.20 mL, 26.70 mmol), y se calentó a 50 °C durante 24 h. Al cabo de este tiempo, se añadió H₂O (100 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 mL). La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v (100 mL), H₂O (100 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (100 mL), se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. Después de eliminar el disolvente a presión reducida se recogieron 2.70 g (rendimiento cuantitativo) de 2,3-bis(benciloxi)benzoato de metilo (**55**) como un aceite marrón oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 7.50-7.28 (m, 11H); 7.18-6.89 (m, 2H); 5.15 (s, 2H, O-CH₂-Ph); 5.11 (s, 2H, O-CH₂-Ph); 3.85 (s, 3H, OCH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 166.8 (CO, C-7); 152.8 (C, C-2); 148.3 (C, C-3); 137.4 (C); 136.6 (C); 128.6 (CH); 128.3 (CH); 128.1 (CH); 127.9 (CH); 127.5 (CH); 126.9 (C, C-1); 123.9 (CH, C-4); 122.9 (CH, C-5); 118.1 (CH, C-6); 75.7 (CH₂, O-CH₂-Ph); 71.3 (CH₂, O-CH₂-Ph); 52.1 (CH₃, OCH₃).

(+)-LR-ESIMS m/z : 349.14 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 349.1385 [M+H]⁺ (calculada para C₂₂H₂₀O₄: 349.1395).

Síntesis de ácido 2,3-bis(benciloxi)benzoico (**24**)

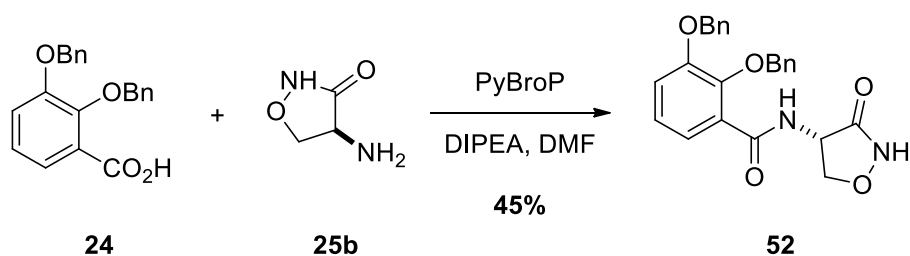
Sobre una disolución de **55** (2.50 g, 7.20 mmol) en una mezcla 1:1 THF/H₂O (150 mL), se añadió Ba(OH)₂·8H₂O (6.80 g, 21.60 mmol) y a continuación se calentó a 50 °C durante 12 h. Una vez fría, se acidificó con la resina de intercambio iónico Dowex® 50WX8 hasta pH 4, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida, recogándose 2.40 g (rendimiento del 95%) de ácido 2,3-bis(benciloxi)benzoico (**24**) como un aceite marrón oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.76 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H, H-6); 7.52-7.31 (m, 10H); 7.30-7.16 (m, 2H); 5.28 (s, 2H, OCH₂-Ph); 5.21 (s, 2H, OCH₂-Ph).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 165.3 (CO, C-7); 151.4 (C, C-2); 147.2 (C, C-3); 135.9 (C, C); 134.7 (C, C); 129.3 (CH); 128.8 (CH); 128.7 (CH); 128.5 (CH); 127.7 (CH); 125.0 (CH, C-4); 124.4 (CH, C-5); 123.1 (C, C-1); 119.0 (CH, C-6); 77.0 (CH₂, OCH₂-Ph); 71.6 (CH₂, OCH₂-Ph).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 357.11 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 357.1104 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₁H₁₈O₄Na: 357.1097).

Síntesis de (4S)-2,3-bis(benciloxi)-N-(3-oxoisoxazolidin-4-il)benzamida (52)

Sobre una disolución de L-cicloserina (**25b**) comercial (71 mg, 0.71 mmol) en H₂O (0.33 mL), se adicionó otra disolución del ácido **24** (0.25 g, 0.71 mmol) en DMF (7 mL), el agente acoplante PyBroP (0.43 mg, 0.91 mmol) y DIPEA (0.37 mL, 2.11 mmol). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Transcurrido este tiempo se diluyó con EtOAc (5 mL) y se lavó con una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v (5 mL), una disolución acuosa saturada de Na₂CO₃ (5 mL) y H₂O (8.5 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Este crudo se purificó mediante columna de gel de sílice [Hexano/EtOAc (1:2)], recogiénose 0.29 g (rendimiento del 45%) de (4S)-2,3-bis(benciloxi)-N-(3-oxoisoxazolidin-4-il)benzamida (**52**) como un sólido amorfo blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 8.58 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, NH); 7.70 (dd, *J* = 7.4, 2.2 Hz, 1H, H-6); 7.52-7.24 (m, 10H); 7.22-7.10 (m, 2H); 5.25 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, OCH₂-Ph); 5.17 (s, 2H, OCH₂-Ph); 5.10 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, OCH₂-Ph); 4.85 (ddd, *J* = 10.2, 8.1, 5.3 Hz, 1H, H-8); 4.77 (dd, *J* = 8.2, 8.1 Hz, 1H, H-9b); 3.81 (dd, *J* = 10.2, 8.1 Hz, 1H, H-9a).

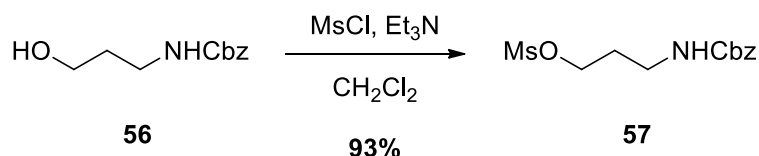
RMN-¹³C (300 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 165.9 (CO, C-7); 151.8 (C, C-2); 147.3 (C, C-3); 136.4 (C); 136.0 (C); 129.3 (CH); 128.7 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.3 (CH); 127.7 (CH); 126.1 (C, C-1); 124.5 (CH, C-4); 123.4 (CH, C-5); 118.1 (CH, C-6); 76.7 (CH₂, OCH₂-Ph); 74.7 (CH₂, C-9); 71.6 (CH₂, OCH₂-Ph); 60.5 (CH, C-8).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 419.16 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 419.1598 [M+H]⁺ (calculada para C₂₄H₂₃N₂O₅: 419.1601).

[α]_D²⁵ = -8.6 (*c* = 0.41, CHCl₃).

Síntesis de metanosulfonato de 3-(((benciloxi)carbonil)amino)propilo (**57**)



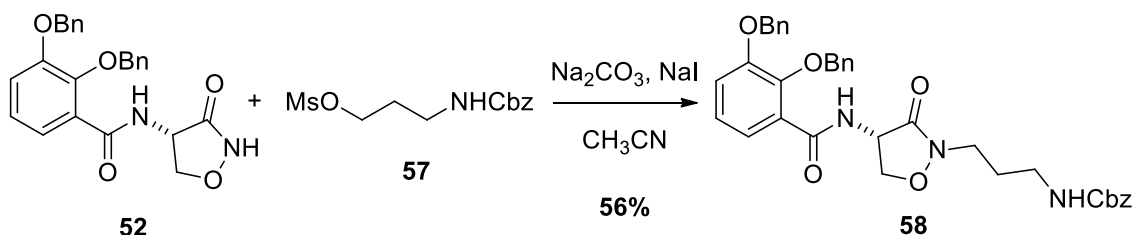
Sobre una disolución de 3-*N*-carboxibenzoilpropanol (**56**) comercial (0.50 g, 2.85 mmol) y cloruro de mesilo (0.24 mL, 3.17 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL), enfriada a 0 °C, se añadió gota a gota trietilamina (0.46 mL, 3.17 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente lentamente y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se redisolvió en EtOAc (100 mL) y la disolución se lavó con una disolución acuosa 1 M de K₂SO₄ (50 mL), H₂O (2 x 50 mL) y una disolución saturada de NaCl (50 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar 0.81 g (rendimiento del 93%) de metanosulfonato de 3-(((benciloxi)carbonil)amino)propilo (**57**) como un polvo amarillo claro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.40-7.28 (m, 5H, Cbz); 5.09 (s, 2H, OCH₂-Ph); 4.28 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz); 3.33 (c, *J* = 6.3 Hz, 2H, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz); 3.01 (s, 3H, SO₃-CH₃); 1.95 (tt, *J* = 6.3, 6.2 Hz, 2H, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz).
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 156.5 (CO, Cbz); 136.4 (C, Cbz); 128.5 (CH, Cbz); 128.2 (CH, Cbz); 128.0 (CH, Cbz); 127.5 (CH, Cbz); 127.3 (CH, Cbz); 67.2 (CH₂, Cbz); 66.8 (CH₂, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz); 37.5 (CH₃, SO₃-CH₃); 37.4 (CH₂, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz); 29.5 (CH₂, MsO-CH₂-CH₂-CH₂-NHCbz).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 288.09 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 288.0903 [M+H]⁺ (calculada para C₁₂H₁₈NO₅S: 288.0861).

Síntesis de (4S)-(3-(4-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-oxoisoxazolidin-2-il)propil) carbamato de bencilo (58)



Sobre una disolución de la amida **52** (0.30 g, 0.75 mmol) en CH₃CN (15 mL), se añadió, sucesivamente, el mesilato **57** (0.41 g, 1.41 mmol), NaI (0.22 g, 1.34 mmol) y Na₂CO₃ (0.38 g, 2.70 mmol). El matraz de reacción se cubrió con papel de aluminio y se dejó reaccionar a 60 °C durante toda la noche. Después de este tiempo se concentró a presión reducida para seguidamente purificarlo por cromatografía en columna en gel de sílice [Hexano/EtOAc (1:2)], recogiénose 0.25 g (rendimiento del 56%) de (4S)-(3-(4-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-oxoisoxazolidin-2-il)propil)carbamato de bencilo (**58**) como un sólido amorfo blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 8.55 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H, NH); 7.67 (dd, *J* = 7.4, 2.2 Hz, 1H, H-6); 7.58-7.22 (m, 17H); 5.27-5.01 (m, 6H); 4.77 (ddd, *J* = 10.2, 8.3, 5.5 Hz, 1H, H-8); 4.64 (dd, *J* = 8.4, 8.3 Hz, 1H, H-9b); 3.77 (dd, *J* = 10.2, 8.3 Hz, 1H, H-9a); 3.70-3.52 (m, 2H, H-11); 3.22 (td, *J* = 6.3, 5.5 Hz, 2H, H-13); 1.78 (tt, *J* = 6.4, 6.3 Hz, 2H, H-12).

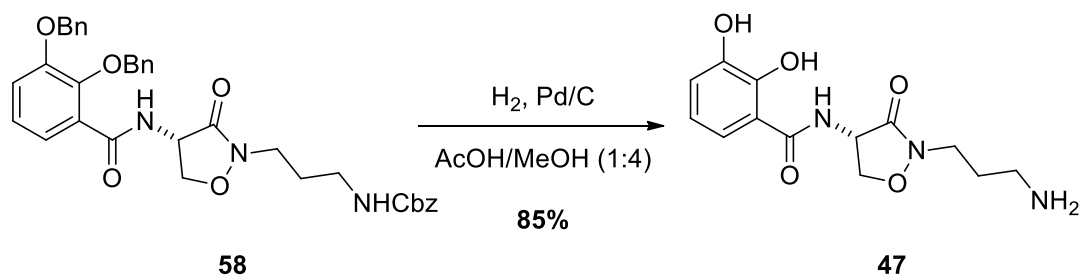
RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 165.9 (CO, C-10); 165.6 (CO, C-7); 156.41 (CO, Cbz); 151.7 (C, C-2); 147.0 (C, C-3); 136.6 (C); 136.2 (C); 135.9 (C); 129.3 (CH); 128.7 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.4 (CH); 128.3 (CH); 128.1 (CH); 128.0 (CH); 127.0 (CH); 126.0 (C, C-1); 124.4 (CH, C-4); 123.2 (CH, C-5); 117.8 (CH, C-6); 76.4 (CH₂, OCH₂-Ph); 72.4 (CH₂, C-9); 71.4 (CH₂, OCH₂-Ph); 66.5 (CH₂, Cbz); 52.6 (CH, C-8); 42.3 (CH₂, C-11); 37.7 (CH₂, C-13); 29.7 (CH₂, C-12).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 610.25 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 610.2538 [M+H]⁺ (calculada para C₃₅H₃₆N₃O₇: 610.2547).

[α]_D²⁴ = -11.6 (c = 0.12, CHCl₃).

Síntesis de (4S)-N-(2-(3-aminopropil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (47)



Sobre una disolución de **58** (50 mg, 0.08 mmol) en una mezcla 1:4 AcOH/MeOH (2.50 mL), se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (5 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 90 min. Al cabo de este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® XS F5 (100 x 4.6 mm, 5 µm) con una fase móvil consistente en un isocrático 15% CH₃CN en H₂O (v/v) conteniendo 0.1% TFA a un flujo de 1.0 mL/min (*t_R* = 5.9 min, λ = 230, 254, 280 nm), recogiénose 17 mg (rendimiento del 85%) de (4S)-N-(2-(3-aminopropil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**47**) como un sólido grisáceo.

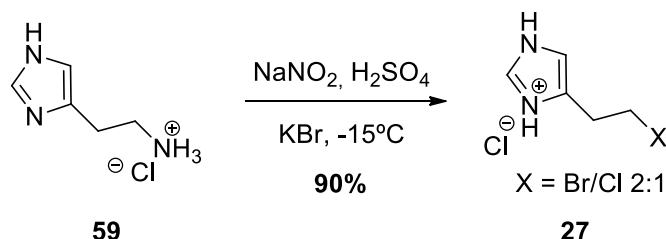
RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.28 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H, H-6); 6.98 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, H-4); 6.77 (t, *J* = 8.0, 1H, H-5); 5.04 (dd, *J* = 9.6, 9.5 Hz, 1H, H-9b); 4.69 (dd, *J* = 9.5 Hz, 8.3 Hz, 1H, H-9a); 4.36 (dd, *J* = 9.5, 8.3 Hz, 1H, H-8); 3.86 (ddd, *J* = 15.0, 7.6, 5.9 Hz, 1H, H-11b); 3.69 (dt, *J* = 15.0, 5.9 Hz, 1H, H-11a); 3.10 (t, *J* = 12.5 Hz, 2H, H-13); 2.14-1.99 (m, 2H, H-12).

RMN-¹³C (125 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 170.1 (CO, C-7); 166.8 (CO, C-10); 148.5 (C, C-2); 145.9 (C, C-3); 118.7 (CH, C-4); 118.5 (CH, C-5); 117.9 (CH, C-6); 115.1 (C, C-1); 70.1 (CH₂, C-9); 52.6 (CH, C-8); 42.0 (CH₂, C-11); 37.0 (CH₂, C-13); 24.8 (CH₂, C-12).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 296.12 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 296.1194 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₁₈N₃O₅: 296.1209).

[α]_D²³ = -13.9 (c = 0.17, CH₃OH).

Síntesis de hidrocloreto 4-(2-cloroetil)-1*H*-imidazol e hidrocloreto 4-(2-bromoetil)-1*H*-imidazol (27)

Sobre una disolución del dihidrocloreto de histamina (**59**) comercial (0.50 g, 2.71 mmol) y bromuro potásico (0.72 g, 8.91 mmol) en una disolución acuosa 1.5 M de H₂SO₄ (5 mL), enfriada a -15 °C, se adicionó otra disolución acuosa saturada de nitrito sódico (0.35 mL). Esta disolución se agitó a -15 °C durante 30 min y después a temperatura ambiente durante 3 h. Al cabo de este tiempo, se volvió a enfriar a -15 °C y se añadió, gota a gota, una disolución acuosa 5 M de NaOH hasta llegar a pH 10. Se extrajo con CHCl₃ (5 x 5 mL) y los extractos orgánicos reunidos fueron vertidos sobre un matraz que contiene una disolución 0.5 N de HCl en EtOAc (6 mL). Después de eliminar el disolvente a presión reducida se recogieron 0.51 g (rendimiento del 90%) de una mezcla hidrocloreto 4-(2-cloroetil)-1*H*-imidazol e hidrocloreto 4-(2-bromoetil)-1*H*-imidazol (**27**) en relación 1:2, como un sólido cristalino blanco.

Hidrocloreto 4-(2-cloroetil)-1*H*-imidazol:

RMN-¹H (300 MHz, D₂O), δ_H ppm: 8.56 (s, 1H, H-2 imidazol); 7.31 (s, 1H, H-4 imidazol); 3.79 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, Cl-CH₂-CH₂-imidazol); 3.16 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, Cl-CH₂-CH₂-imidazol).

RMN-¹³C (75 MHz, D₂O), δ_C ppm: 133.0 (CH, C-2 imidazol); 130.9 (C, C-5 imidazol); 116.5 (CH, C-4 imidazol); 42.7 (CH₂, Cl-CH₂-CH₂-imidazol); 27.2 (CH₂, Cl-CH₂-CH₂-imidazol).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 131.04 (Cl³⁵)/133.04 (Cl³⁷) (3:1) [M+H]⁺.

Hidrocloreto 4-(2-bromoetil)-1*H*-imidazol:

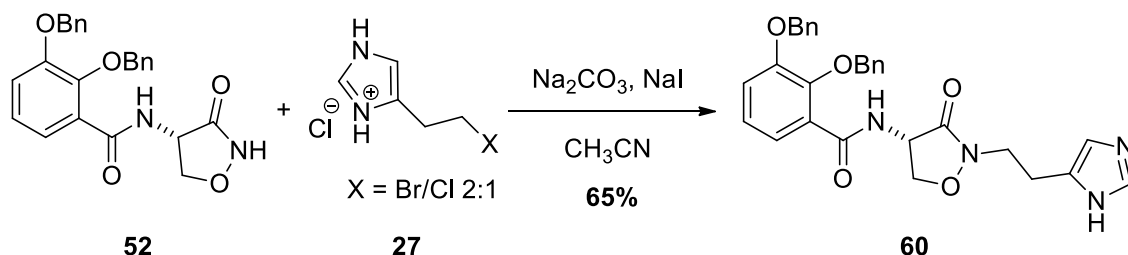
RMN-¹H (300 MHz, D₂O), δ_H ppm: 8.56 (s, 1H, H-2 imidazol); 7.31 (s, 1H, H-4 imidazol); 3.64 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, Br-CH₂-CH₂-imidazol); 3.26 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, Br-CH₂-CH₂-imidazol).

RMN-¹³C (75 MHz, D₂O), δ_C ppm: 133.0 (CH, C-2 imidazol); 130.9 (C, C-5 imidazol); 116.5 (CH, C-4 imidazol); 30.7 (CH₂, Br-CH₂-CH₂-imidazol); 27.3 (CH₂, Br-CH₂-CH₂-imidazol).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 174.99 (Br⁷⁹)/175.99 (Br⁸¹) (1:1) [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 174.9861 [M+H]⁺ (calculada para C₅H₈N₂Br: 174.9865).

Síntesis de (4S)-(N-(2-(2-(1H-imidazol-5-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-bis(benciloxi)benzamida (60)



A una disolución de la amida **52** (0.10 g, 0.24 mmol) en CH₃CN (9 mL) se le añadió la mezcla de halogenuros **27** (90 mg, 0.43 mmol), yoduro potásico (31 mg, 0.24 mmol) y carbonato sódico (0.11 g, 0.72 mmol), dejando la suspensión a 60 °C durante toda la noche. Al cabo de este tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida y seguidamente se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (95:5)], recogiénose 80 mg (rendimiento del 65%) de (4S)-(N-(2-(2-(1H-imidazol-5-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-bis(benciloxi)benzamida (**60**) como un sólido amorfo blanco.

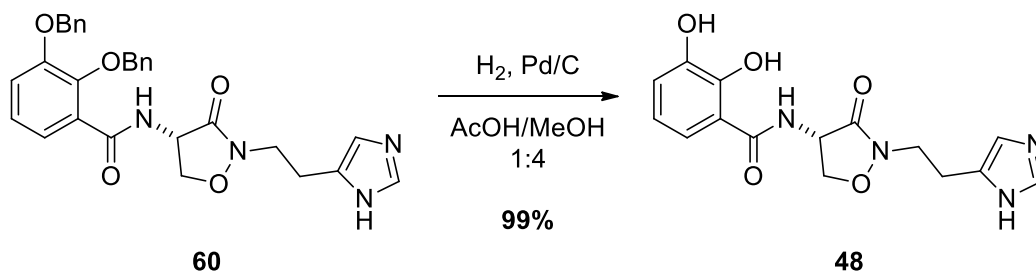
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 8.57 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH); 7.67 (dd, *J* = 7.4, 2.2 Hz, 1H, H-6); 7.54 – 7.10 (m, 13H); 6.81 (s, 1H, H-14); 5.22 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, OCH₂-Ph); 5.16 (s, 2H, OCH₂-Ph); 5.08 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H, OCH₂-Ph); 4.73 (ddd, *J* = 10.0, 8.5, 5.8 Hz, 1H, H-8); 4.60 (dd, *J* = 8.5, 8.4 Hz, 1H, H-9b); 3.98-3.72 (m, 3H, H-9a/H-11), 2.96 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, H-12).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 165.7 (CO, C-10); 165.5 (CO, C-7); 151.6 (C, C-2); 146.9.5 (C, C-3); 136.2 (C, C-13); 136.0 (C); 135.2 (CH, C-14); 129.3 (CH); 128.7 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.3 (CH); 127.7 (CH); 126.1 (C, C-1); 124.5 (CH, C-4); 123.1 (CH, C-5); 117.8 (CH, C-6); 76.5 (CH₂, OCH₂-Ph); 71.8 (CH₂, C-9); 71.4 (CH₂, OCH₂-Ph); 52.8 (CH, C-8); 45.1 (CH₂, C-11); 24.5 (CH₂, C-12).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 513.21 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 513.2115 [M+H]⁺ (calculada para C₂₉H₂₉N₄O₅: 513.2132).

[α]_D²⁵ = -20.1 (c = 1.17, CH₃OH).

Síntesis de (4S)-N-(2-(2-(1H-imidazol-5-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (48)

Sobre una disolución de **60** (30 mg, 0.06 mmol) en una mezcla 1:4 AcOH/MeOH (2.50 mL), se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (3 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 90 min. Al cabo de este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® XS F5 (100 x 4.6 mm, 5 µm) con una fase móvil consistente en un isocrático 10% CH₃CN en H₂O (v/v) conteniendo 0.1% TFA a un flujo de 1.5 mL/min (*t_R* = 6.0 min, λ = 230, 254, 280 nm), para dar 19 mg (rendimiento del 99%) de (4S)-N-(2-(2-(1H-imidazol-5-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**48**) como un sólido grisáceo.

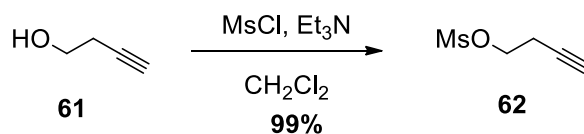
RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 8.85 (s, 1H, H-15); 7.49 (s, 1H, H-14); 7.27 (dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, 1H, H-6); 6.98 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H-4); 6.76 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 4.99 (dd, *J* = 10.2, 9.0 Hz, 1H, H-9b); 4.67 (dd, *J* = 8.8, 8.7 Hz, 1H, H-9a); 4.29 (dd, *J* = 10.2, 8.3 Hz, 1H, H-8); 4.03 (dt, *J* = 14.8, 6.4 Hz, 1H, H-13b); 3.94 (dt, *J* = 14.8, 6.3 Hz, 1H, H-13a); 3.16 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, H-12).

RMN-¹³C (500 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 170.0 (CO, C-10); 167.1 (CO, C-7); 148.5 (C, C-2); 145.9 (C, C-3); 133.6 (C, C-13); 130.6 (CH, C-15); 118.7 (CH, C-4); 118.5 (CH, C-5); 117.8 (CH, C-6); 116.8 (CH, C-14); 115.1 (C, C-1); 70.1 (CH₂, C-9); 52.4 (CH, C-8); 43.5 (CH₂, C-11); 21.7 (CH₂, C-12).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 333.12 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 333.1198 [M+H]⁺ (calculada para C₁₅H₁₆N₄O₅: 333.1193)

[α]_D²⁵ = -13.2 (c = 0.41, CH₃OH).

Síntesis de metanosulfonato de but-3-in-1-il (**62**)

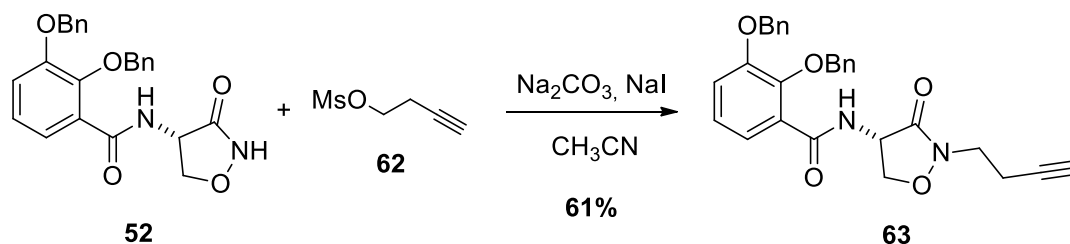
Sobre una disolución de but-3-in-1-ol (**61**) comercial (0.53 g, 7.60 mmol) y cloruro de mesilo (0.64 mL, 8.30 mmol) en CH₂Cl₂ (7.50 mL), enfriada a 0 °C , se añadió gota a gota trietilamina (1.21 mL, 8.30 mmol) y la mezcla de reacción se agitó 0 °C durante 3 h. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente lentamente y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se redisolvió en EtOAc (100 mL) y la disolución se lavó con una disolución acuosa 1 M de K₂SO₄ (50 mL), H₂O (2 x 50 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (50 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar 1.12 g (rendimiento del 99%) de metanosulfonato de but-3-in-1-il (**62**) como un polvo amarillo claro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.26 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, H-1); 3.01 (s, 3H, OMs); 2.66-2.58 (m, 2H, H-2); 2.05 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, H-4).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 79.1 (CH, C-4); 71.5 (C, C-3); 67.6 (CH₂, C-1); 38.3 (CH₃, OMs); 20.3 (CH₂, C-2).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 149.03 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 149.0271 [M+H]⁺ (calculada para C₅H₉O₃S: 149.0266).

Síntesis de (4S)-2,3-bis(benciloxi)-N-(2-(but-3-in-1-il)-3-oxoisoxazolidin-4-il)benzamida (63)

Sobre una disolución de **52** (0.15 g, 0.34 mmol), NaI (51 mg, 0.34 mmol) y Na_2CO_3 (85 mg, 0.58 mmol) en CH_3CN (12 mL), se añadió el mesilato **62** (86 mg, 0.58 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante toda la noche, protegiéndola de la luz. Transcurrido este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a presión reducida. La purificación de este crudo por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:2)], dio 93 mg (rendimiento del 61%) de (4S)-2,3-bis(benciloxi)-N-(2-(but-3-in-1-il)-3-oxoisoxazolidin-4-il)benzamida (**63**) como un sólido cristalino blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 8.56 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, NH); 7.68 (dd, $J = 7.4, 2.2$ Hz, 1H, H-6); 7.52-7.23 (m, 10H); 7.23-7.09 (m, 2H); 5.26 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, O-CH $_2$ -Ph); 5.19 (s, 2H, O-CH $_2$ -Ph); 5.11 (d, $J = 10.7$ Hz, 1H, O-CH $_2$ -Ph); 4.87 (ddd, $J = 10.3, 8.3, 5.1$ Hz, 1H, H-8); 4.71 (dd, $J = 8.4, 8.3$ Hz, 1H, H-9b); 3.83-3.68 (m, 3H, H-9a/H-11); 2.53 (dt, $J = 7.0, 2.7$ Hz, 2H, H-12); 1.98 (t, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-14).

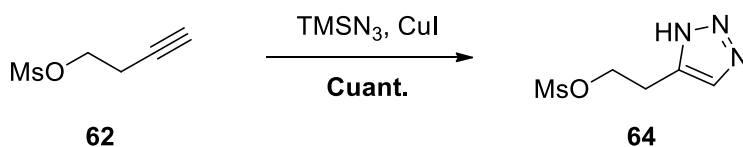
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 166.5 (CO, C-10); 165.6 (CO, C-7); 151.1 (C, C-2); 147.0 (C, C-3); 136.2 (C); 135.9 (C); 129.3 (CH); 128.7 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.3 (CH); 127.7 (CH); 126.1 (C, C-1); 124.4 (CH, C-4); 123.2 (CH, C-5); 117.8 (CH, C-6); 80.0 (CH, C-14); 76.4 (CH $_2$, O-CH $_2$ -Ph); 72.7 (CH $_2$, C-9); 71.4 (CH $_2$, O-CH $_2$ -Ph); 70.5 (C, C-13); 52.5 (CH, C-8); 43.8 (CH $_2$, C-11); 17.1 (CH $_2$, C-12).

(+)-LR-ESIMS m/z : 471.19 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 471.1913 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_5$: 471.1914).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -18.3$ ($c = 0.30$, CHCl_3).

Síntesis de metanosulfonato de 2-(1*H*-1,2,3-triazol-5-il)etilo (**64**)



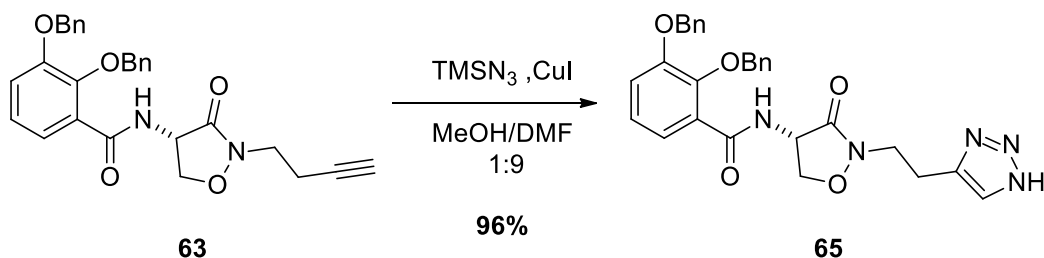
Sobre una disolución del alquino **62** (0.10 g, 0.68 mmol) en una mezcla 1:9 MeOH/DMF (2 mL) se añadió azida de trimetilsililo (0.13 mL, 1.01 mmol) y CuI (7 mg, 0.03 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 h. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc (10 mL), se lavó con una disolución saturada de NaCl (10 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL), las fracciones orgánicas recogidas se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y el disolvente se evaporó a presión reducida, para obtener 0.13 g (rendimiento cuantitativo) de metanosulfonato de 2-(1*H*-1,2,3-triazol-5-il)etilo (**64**) como un sólido amorfo gris claro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.55 (s, 1H, H-4 triazol); 4.34-4.54 (m, 4.42, 2H, H-1); 3.19 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, H-2b); 3.11 (t, *J* = 6.6 Hz, H-2a); 2.96 (s, 3H, OMs).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 192.04 [M+H]⁺.

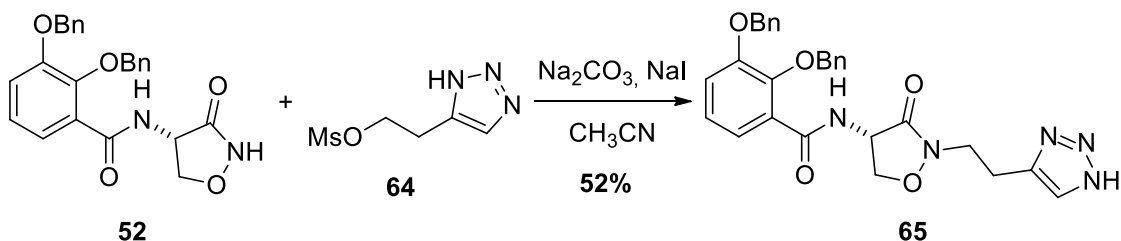
Síntesis de (4S)-N-(2-(2-(1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-bis(benciloxi) benzamida (**65**)

Procedimiento A:



Se disolvieron 77 mg (0.16 mmol) del alquino **63** en 2 mL de una mezcla 1:9 MeOH/DMF y se añadió azida de trimetilsililo (0.03 mL, 0.24 mmol) y CuI (3 mg, 0.01 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C durante 12 h. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc (10 mL), se lavó con una disolución saturada de NaCl (10 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL), las fracciones orgánicas recogidas se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción seguidamente se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (98:2)], para obtener 34 mg (rendimiento del 96%) de (4S)-N-(2-(2-(1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-bis(benciloxi) benzamida (**65**) como un sólido amorfo gris claro.

Procedimiento B:



A una disolución de la amida **52** (0.12 g, 0.28 mmol), NaI (41 mg, 0.28 mmol) y Na₂CO₃ (70 mg, 0.48 mmol) en CH₃CN (10 mL) se le añadió el mesilato **64** (92 mg, 0.48 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante toda la noche, protegiéndola de la luz. Transcurrido este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a presión reducida. La purificación de este crudo por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (99:1)], dio 80 mg (rendimiento del 52%) de **65** como un sólido cristalino blanco.

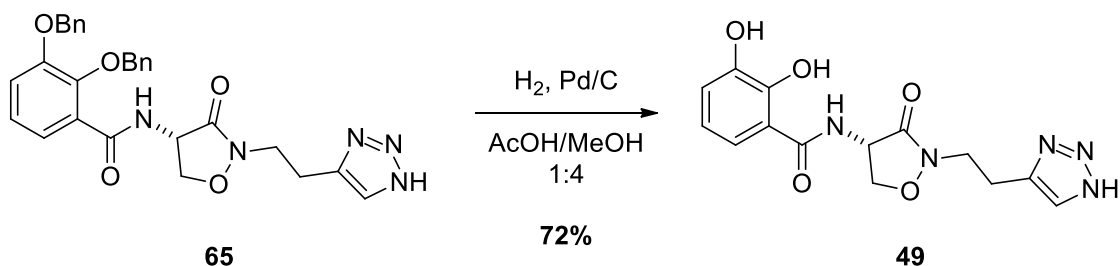
RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.71 (s, 1H, H-14); 7.51 (dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, 1H, H-6); 7.45-7.23 (m, 11H), 7.16 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 5.22-5.04 (m, 4H); 4.57 (dd, *J* = 8.5, 8.4 Hz, 1H, H-9b); 3.93-3.86 (m, 3H, H-9a/H-11), 3.10 (td, *J* = 6.8, 3.1 Hz, 2H, H-12).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_c ppm: 166.9 (CO, C-10); 166.4 (CO, C-7); 152.0 (C, C-2); 146.1 (C, C-3); 136.7 (C); 136.5 (C); 128.8 (CH); 128.3 (CH); 128.2 (CH); 128.1 (CH); 127.8 (CH); 127.7 (CH); 127.2 (C, C-1); 124.1 (CH, C-4); 121.5 (CH, C-5); 117.4 (CH, C-6); 76.6 (CH₂, O-CH₂-Ph); 70.9 (CH₂, C-9); 70.8 (CH₂, O-CH₂-Ph); 52.5 (CH, C-8); 44.4 (CH₂, C-11); 22.0 (CH₂, C-12).

(+)-LR-ESIMS m/z : 514.20 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 514.2064 [M+H]⁺ (calculada para C₂₈H₂₈N₅O₅: 514.2084).

$[\alpha]_D^{25}$ = -10.7 (c = 0.99, CH₃OH).

Síntesis de (4S)-N-(2-(2-(1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (49)

Sobre una disolución de **65** (25 mg, 0.05 mmol) en una mezcla 1:4 AcOH/MeOH (5 mL), se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (3 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H_2 (1 atm) durante 90 min. Al cabo de este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® XS F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm) con una fase móvil consistente en un isocrático 10% CH_3CN en H_2O (v/v) conteniendo 0.1% TFA a un flujo de 1.5 mL/min (t_R = 4.0 min, λ = 254, 280, 320 nm), para dar 9 mg (rendimiento del 72%) de (4S)-N-(2-(2-(1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**49**) como un sólido amorfo gris oscuro.

RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD), δ_{H} ppm: 7.80 (s, 1H, H-14); 7.28 (dd, J = 8.2, 1.5 Hz, 1H, H-6); 6.97 (dd, J = 7.9, 1.4 Hz, 1H, H-4); 6.75 (t, J = 8.0 Hz, 1H, H-5); 5.08 (dd, J = 10.2, 8.7 Hz, 1H, H-9b); 4.69 (dd, J = 8.6, 8.5 Hz, 1H, H-9a); 4.23 (ddd, J = 9.9, 8.4, 1.2 Hz, 1H, H-8); 4.04-3.86 (m, 2H, H-11), 3.16 (t, J = 6.7 Hz, 2H, H-12).

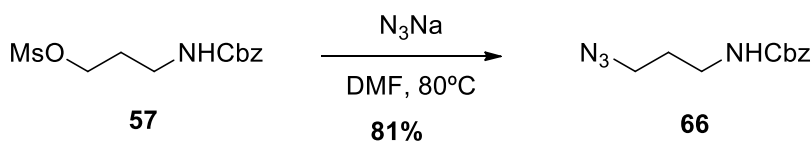
RMN- ^{13}C (125 MHz, CD_3OD), δ_{C} ppm: 170.2 (CO, C-10); 166.8 (CO, C-7); 148.5 (C, C-2); 146.0 (C, C-3); 142.0 (C, C-13); 128.2 (CH, C-14); 118.7 (CH, C-4); 118.4 (CH, C-5); 117.7 (CH, C-6); 114.9 (C, C-1); 70.5 (CH_2 , C-9); 52.3 (CH, C-8); 44.5 (CH_2 , C-11); 22.5 (CH_2 , C-12).

(+)-LR-ESIMS m/z : 334.11 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 334.1141 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_5$: 334.1145).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -8.2 (c = 0.37, CH_3OH).

Síntesis de (3-azidopropil)carbamato de bencilo (**66**)



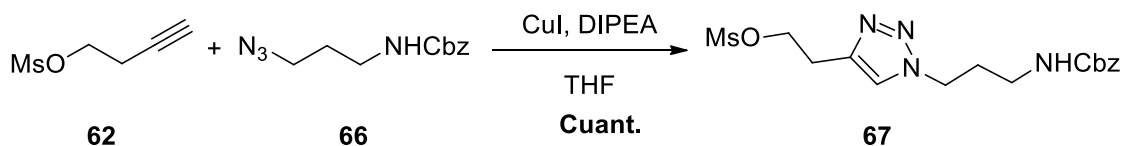
Sobre una disolución del mesilato **57** (0.10 g, 0.37 mmol) en DMF (5 mL), se añadió azida sódica (55 mg, 0.55 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 3 h. Transcurrido este tiempo, se llevó a temperatura ambiente y se distribuyó entre Et_2O (10 mL) y H_2O (10 mL). Se separaron las fases y la fracción acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos recogidos se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl (20 mL), se secaron sobre MgSO_4 anhidro, se filtraron y se eliminó el disolvente. El crudo de reacción seguidamente se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/ EtOAc (1:3)] para obtener 63 mg (rendimiento del 81%) de (3-azidopropil)carbamato de bencilo (**66**) como un aceite fluido marrón oscuro.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.43-7.26 (m, 5H, Cbz); 5.11 (s, 2H, O- CH_2 -Ph); 3.36 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2 - CH_2 - N_3); 3.31-3.22 (m, 2H, CbzNH- CH_2), 1.79 (tt, $J = 6.6, 6.5$ Hz, 2H, CH_2 - CH_2 - N_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 156.4 (CO, Cbz); 136.4 (C, Cbz); 128.5 (CH, Cbz); 128.2 (CH, Cbz); 128.1 (CH, Cbz); 127.8 (CH, Cbz); 127.5 (CH, Cbz); 66.8 (CH_2 , Cbz); 49.0 (CH_2 , CbzNH- CH_2); 38.5 (CH_2 , CH_2 - CH_2 - N_3); 29.1 (CH_2 , CH_2 - CH_2 - N_3).

(+)-LR-ESIMS m/z : 235.12 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 235.1193 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_2$: 235.1189).

Síntesis de metanosulfonato de 2-(1-(3-(((benciloxi)carbonil)amino)propil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etilo (67)

Sobre una disolución del alquino **62** (41 mg, 0.27 mmol) en THF (3 mL) se adicionó otra disolución de la azida **60** (50 mg, 0.23 mmol) en THF (2 mL), CuI en cantidad catalítica (5 mg, 0.02 mmol) y DIPEA (0.05 mL, 0.11 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Después de este tiempo, se paró la reacción con H₂O y se diluyó con EtOAc (5 mL). Se separaron las fases y la fracción orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaCl (5 mL), se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 102 mg (rendimiento cuantitativo) de metanosulfonato de 2-(1-(3-(((benciloxi)carbonil)amino)propil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)etilo (**67**) como un sólido amorfo amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.57 (s, 1H, H-4 triazol); 7.34 (s, 5H, Cbz); 5.08 (s, 2H, Cbz); 4.42 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H-1); 4.33 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, H-5); 3.25-3.15 (m, 4H, H-2/H-7); 2.88 (s, 3H); 2.06-1.97 (m, 2H, H-6).

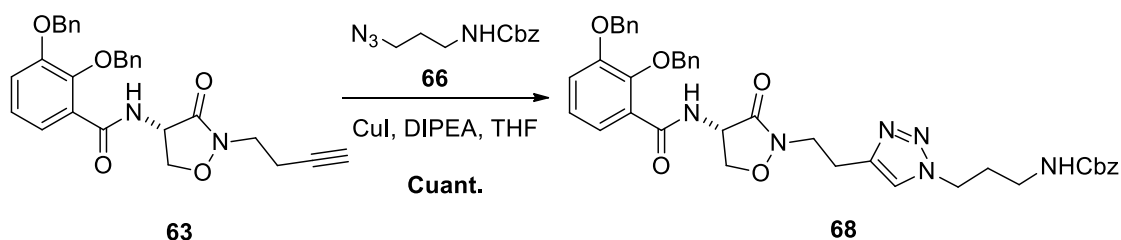
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 156.7 (CO, Cbz); 136.5 (C); 128.7 (CH); 128.3 (CH); 128.2 (CH); 68.8 (CH₂, Cbz); 66.9 (CH₂, C-1); 47.7 (CH₂, C-5); 37.8 (CH₂, C-7); 37.5 (CH₃, OMs); 30.6 (CH₂, C-6); 26.2 (CH₂, C-2).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 383.14 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 383.1385 [M + H]⁺ (calculada para C₁₆H₂₃N₄O₅S: 383.1383).

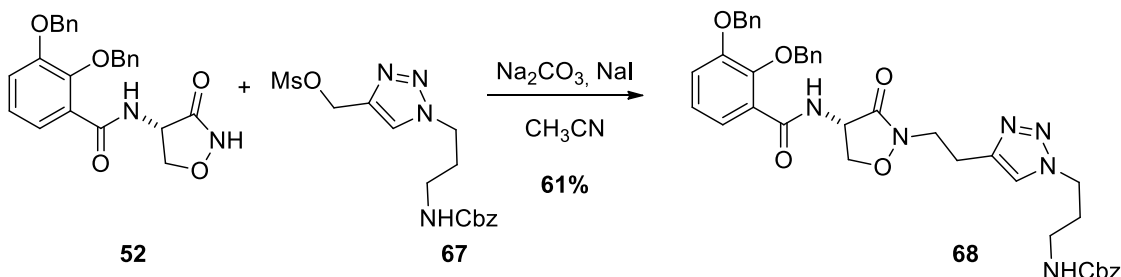
Síntesis de (4S)-(3-(4-(2-(4-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-oxoisoxazolidin-2-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)carbamato de bencilo (**68**)

Procedimiento A:



Sobre una disolución del alquino **63** (0.10 g, 0.22 mmol) en THF (2 mL) se adicionó otra disolución de la azida **66** (40 mg, 0.18 mmol) en THF (2 mL), CuI en cantidad catalítica (4 mg, 0.06 mmol) y DIPEA (0.04 mL, 0.09 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Después de este tiempo, se paró la reacción con H₂O y se extrajo con EtOAc (5 mL). Se separaron las fases y la fracción orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaCl (5 mL), se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida, para dar 120 mg (rendimiento cuantitativo) de (4S)-(3-(4-(2-(4-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-oxoisoxazolidin-2-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)carbamato de bencilo (**68**) como un sólido amorfo gris claro.

Procedimiento B:



Sobre una disolución **52** (76 mg, 0.18 mmol), NaI (30 mg, 0.18 mmol) y Na₂CO₃ (46 mg, 0.31 mmol) en CH₃CN (4 mL), se añadió el mesilato **67** (70 mg, 0.18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante toda la noche, protegiéndose de la luz. Transcurrido este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a presión reducida. La purificación de este crudo por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:3)], dio 77 mg (rendimiento del 61%) de (S)-(3-(4-(2-(4-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-oxoisoxazolidin-2-il)etil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)carbamato de bencilo (**68**) como un sólido amorfo gris claro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 8.47 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH); 7.64 (dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz, 1H, H-6); 7.51 (s, 1H, H-14); 7.49-7.21 (m, 15H); 7.18-7.06 (m, 2H); 5.27-5.01 (m, 6H); 4.74 (ddd, *J* = 10.3, 8.4, 5.8 Hz, 1H, H-8); 4.60 (dd, *J* = 8.4, 8.3 Hz, 1H, H-9b); 4.32 (t,

$J = 6.6$ Hz, 2H, H-15); 3.87 (tt, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-11); 3.77 (dd, $J = 10.4, 8.3$ Hz, 1H, H-9a); 3.10 (m, 4H, H-17/H-12); 2.05 (dd, $J = 7.1$ Hz, 2H, H-16).

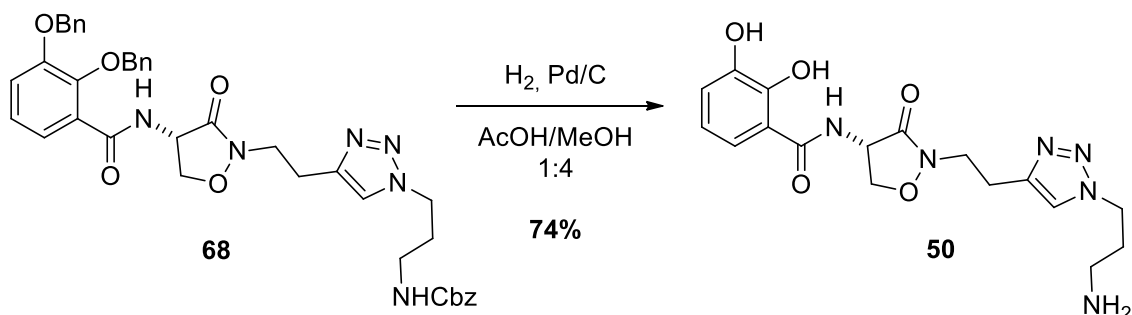
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{c} ppm: 166.0 (CO, C-10); 165.4 (CO, C-7); 151.7 (CO, Cbz); 146.8 (C, C-2); 137.8 (C, C-3); 136.5 (C); 136.2 (C); 134.5 (C, C-13); 129.4 (CH); 128.7 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.4 (CH); 128.3 (CH); 128.1 (CH); 128.0 (CH); 127.7 (CH); 126.1 (C, C-14); 124.5 (CH, C-4); 123.1 (CH, C-5); 117.5 (CH, C-6); 76.4 (CH_2 , O- CH_2 -Ph); 71.9 (CH_2 , C-9); 71.4 (CH_2 , O- CH_2 -Ph); 66.7 (CH_2 , Cbz); 52.6 (CH, C-8); 47.2 (CH_2 , C-11); 44.5 (CH_2 , C-15); 37.5 (CH_2 , C-17); 30.5 (CH_2 , C-16); 23.4 (CH_2 , C-12).

(+)-LR-ESIMS m/z : 705.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 705.3008 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_7$: 705.3031).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -5.2 ($c = 0.80$, CHCl_3).

Síntesis de (4S)-N-(2-(2-(1-(3-aminopropil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (50)



Una suspensión de **68** (40 mg, 0.06 mmol) y una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (4 mg) en una mezcla 1:4 AcOH/MeOH (2.50 mL), se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. Este crudo se purificó mediante HPLC: columna Discovery® XS F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm) con una fase móvil consistente en un isocrático 20% CH₃CN en H₂O (v/v) conteniendo 0.1% TFA a un flujo de 1.5 mL/min (*t_R* = 8.9 min, λ = 230, 254, 280 nm), para dar 15 mg (rendimiento del 74%) de (4S)-N-(2-(2-(1-(3-aminopropil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)etil)-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-dihidroxibenzamida (**50**) como un sólido amorfo gris.

RMN-¹H (500 MHz, D₂O), δ_H ppm: 7.83 (s, 1H, H-14); 7.15 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H, H-6); 7.01 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H-4); 6.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 4.95 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H, H-9b); 4.60 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-9a); 4.44 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, H-15); 4.25 (dd, *J* = 9.4, 8.9 Hz, 1H, H-8); 3.94-4.07 (m, 2H, H-11); 3.06 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, H-17); 2.87 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-12); 2.18 (tt, *J* = 6.5, 6.4 Hz, 2H, H-16).

RMN-¹³C (125 MHz, D₂O), δ_C ppm: 170.1 (CO, C-10); 166.4 (CO, C-7); 164.8 (C, C-13); 147.1 (C, C-2); 144.6 (C, C-3); 124.4 (CH, C-14); 119.9 (CH, C-4); 119.8 (CH, C-5); 119.2 (CH, C-6); 116.1 (C, C-1); 70.0 (CH₂, C-9); 52.7 (CH, C-8); 47.5 (CH₂, C-11); 44.8 (CH₂, C-15); 36.5 (CH₂, C-17); 27.1 (CH₂, C-16); 21.8 (CH₂, C-12).

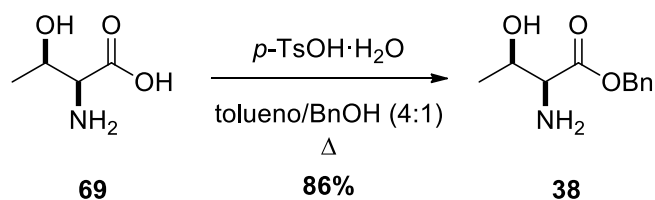
(+)-LR-ESIMS *m/z*: 391.17 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 391.1718 [M+H]⁺ (calculada para C₁₇H₂₃N₆O₅: 391.1724).

[α]_D²⁵ = -12.3 (c = 0.24, CH₃OH).

2.2 Síntesis del enantiómero de acinetobactina (51)

Síntesis de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanoato de bencilo (38)



Sobre una suspensión de L-treonina (**69**) comercial (1.00 g, 8.40 mmol) en una mezcla 1:4 BnOH/tolueno (10 mL) se añadió ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (1.90 g, 10.10 mmol). La mezcla de reacción se agitó a reflujo con el montaje Dean-Stark durante 24 h. Al cabo de ese período se eliminó el tolueno a presión reducida, se añadió H₂O (200 mL) y se lavó con EtOAc (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con H₂O (4 x 100 mL) y las fases acuosas combinadas se llevaron a pH > 9 usando lentejas de KOH. Esta disolución acuosa fue extraída, finalmente, con EtOAc (5 x 200 mL), las fases orgánicas se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Sin más purificación, se recogieron 1.50 g (rendimiento del 86%) de (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanoato de bencilo (**38**) como un sólido amarillento.

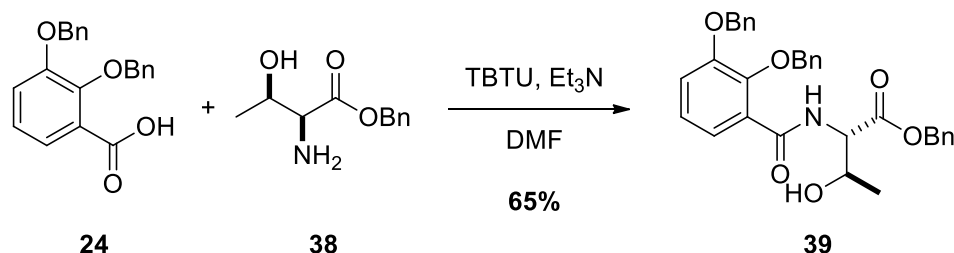
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 7.41-7.29 (m, 5H); 5.19 (s, 2H, O-CH₂-Ph); 3.92 (dc, *J* = 6.3, 5.3 Hz, 1H, CH₃-CH-OH); 3.34 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, CH-CH-NH₂); 2.20 (sa, 2H); 1.22 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 173.7 (CO, C-1); 135.1 (C, Bn); 128.6 (CH, Bn); 128.5 (CH, Bn); 128.3 (CH, Bn); 68.2 (CH, CH₃-CH-OH); 67.1 (CH₂, OBn); 59.9 (CH, CH-CH-NH₂); 19.8 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 210.11 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 210.1129 [M+H]⁺ (calculada para C₁₁H₁₆NO₃: 210.1124).

Síntesis de (2*S*,3*R*)-2-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-hidroxibutanoato de bencilo (39)



Sobre una disolución del ácido **24** (0.53 g, 1.58 mmol) en DMF (7 mL), se añadió la amina **38** (0.30 g, 1.43 mmol), el agente acoplante TBTU (0.51 g, 1.58 mmol) y Et₃N (0.50 mL, 3.57 mmol), dejándose agitar a temperatura ambiente durante toda la noche. Transcurrido este tiempo se diluyó con EtOAc (50 mL) y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (30 mL), con H₂O (30 mL), con ácido cítrico acuoso (0.1 M, 30 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (30 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1)], recogiendo 0.49 g (rendimiento del 65%) de (2*S*,3*R*)-2-(2,3-bis(benciloxi)benzamido)-3-hidroxibutanoato de bencilo (**39**) como un sólido amorfo amarillo.

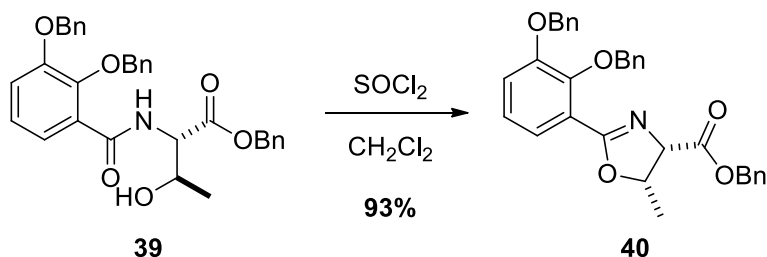
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 8.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, NH); 7.75 (dd, *J* = 6.1, 3.5 Hz, 1H, H-6); 7.48-7.09 (m, 17H); 5.24-5.05 (m, 6H); 4.79 (dd, *J* = 8.5, 2.8 Hz, 1H, H-8); 4.30 (dc, *J* = 6.4, 2.8 Hz, 1H, H-9); 1.14 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 170.9 (CO, C-10); 166.0 (CO, C-7); 152.0 (C, C-2); 147.3 (C, C-3); 136.4 (C); 135.6 (C); 129.1 (CH); 128.8 (CH); 128.7 (CH); 128.5 (CH); 128.5 (CH); 128.4 (CH); 128.4 (CH); 128.0 (CH); 126.8 (C, C-1); 124.5 (CH, C-4); 123.6 (CH, C-5); 117.6 (CH, C-6); 76.2 (CH₂, OBn); 71.6 (CH₂, OBn); 68.3 (CH, C-9); 67.3 (CH₂, OBn); 58.3 (CH, C-8); 20.3 (CH₃, Me).

^[a] las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 548.21 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 548.2063 [M+Na]⁺ (calculada para C₃₂H₃₁NO₆Na: 548.2043).

Síntesis de (4S,5S)-2-(2,3-bis(benciloxi)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato bencilo (40)

Sobre una disolución de la amida **39** (0.35 g, 0.68 mmol) a 0 °C en CH₂Cl₂ (7 mL), se adicionó SOCl₂ gota a gota (0.30 mL, 4.06 mmol). A continuación, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Transcurrido este tiempo, se introdujo el matraz de reacción dentro de un baño de agua y hielo y se neutralizó añadiendo gota a gota una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. Se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [Hexano/EtOAc (3:1)], recogándose 0.32 g (rendimiento del 93%) de (4S,5S)-2-(2,3-bis(benciloxi)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de bencilo (**40**) como un aceite naranja oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.47-7.24 (m, 16H); 7.14-7.02 (m, 2H); 5.29-5.01 (m, 6H); 4.99-4.92 (m, 2H, H-8/H-9); 1.31-1.22 (m, 3H, Me).

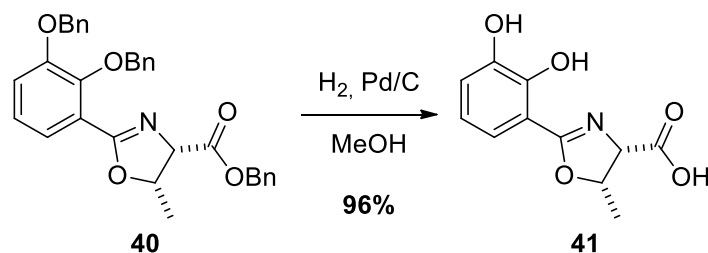
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 169.7 (CO, C-7); 165.6 (CO, C-10); 152.6 (C, C-2); 148.3 (C, C-3); 137.6 (C); 136.7 (C); 135.4 (C); 128.6 (CH); 128.6 (CH); 128.5 (CH); 128.5 (CH); 128.4 (CH); 128.1 (CH); 128.0 (CH); 127.8 (CH); 127.5 (CH); 124.0 (CH, C-4); 123.4 (CH, C-5); 123.3 (C, C-1); 117.9 (CH, C-6); 77.7 (CH, C-9); 75.6 (CH₂, OBn); 71.5 (CH, C-8); 71.4 (CH₂, OBn); 66.9 (CH₂, OBn); 16.1 (CH₃, Me).

^[a] las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 508.21 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 508.2109 [M+H]⁺ (calculada para C₃₂H₃₀NO₅: 508.2118).

Síntesis de ácido (4*S*,5*S*)-2-(2,3-dihidroxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxílico (**41**)

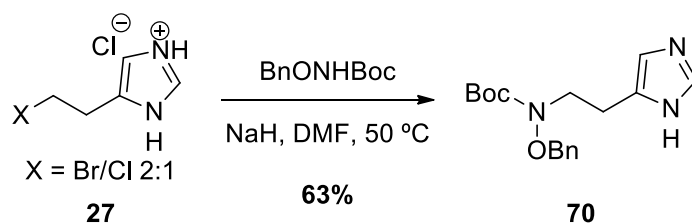


Una suspensión del compuesto **40** (0.30 g, 0.59 mmol) y una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (15 mg) en MeOH (10 mL), se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 2 h. Transcurrido este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. Se recogieron 0.13 g (rendimiento del 96%) de ácido (4*S*,5*S*)-2-(2,3-dihidroxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxílico (**41**) como un sólido grisáceo.

RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.17 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, H-6); 6.97 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, H-4); 6.75 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 5.15 (dc, *J* = 10.1, 6.3 Hz, 1H, H-9); 5.01 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-8); 1.48 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 172.1 (CO, C-7); 169.4 (C, C-10); 152.8 (C, C-2); 149.5 (C, C-3); 124.9 (C, C-4); 123.5 (CH, C-5); 121.6 (CH, C-6); 120.4 (C, C-1); 81.6 (CH, C-9); 70.2 (CH, C-8); 16.5 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 238.07 [M+H]⁺.

Síntesis de (2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)(benciloxi)carbamato de *tert*-butilo (70)

Sobre una disolución de *N*-(benciloxi)carbamato de *tert*-butilo (0.76 g, 3.42 mmol) en DMF (25 mL), enfriada a 0 °C se añadió NaH en dos porciones (en total 0.34 g, 13.41 mmol). Se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó 30 min. A continuación, se añadió la mezcla de haluros **27** (0.60 g, 2.85 mmol) y se dejó a 50 °C bajo agitación durante toda la noche. Después de este tiempo, se llevó a temperatura ambiente y se paró la reacción añadiendo H₂O (20 mL). Se extrajo con EtOAc (50 mL) y la fase orgánica se lavó con H₂O (5 x 30 mL), se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (95:5)], recogándose 0.58 g (rendimiento del 63%) de (2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)(benciloxi)carbamato de *tert*-butilo (**70**) como un sólido cristalino blanco.

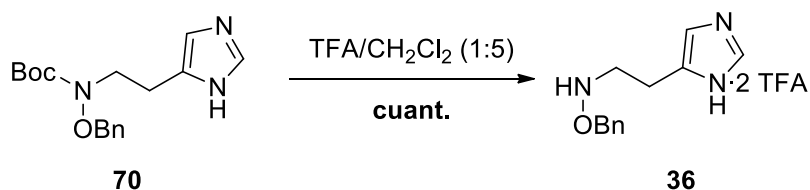
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.51 (s, 1H, H-2 Imidazol); 7.43-7.30 (m, 5H, Bn); 6.79 (s, 1H, H-4 Imidazol); 4.83 (s, 2H, OBn); 3.70 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂-CH₂-imidazol); 2.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂-CH₂-imidazol); 1.44 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 155.4 (CO, Boc); 135.4 (C, C-5 Imidazol); 134.5 (CH, C-2 Imidazol); 129.4 (CH); 128.6 (CH); 128.4 (CH); 81.5 (C, ^{*t*}Bu); 76.9 (CH₂, OBn); 49.4 (CH₂, CH₂-CH₂-imidazol); 28.2 (CH₃, ^{*t*}Bu); 24.2 (CH₂, CH₂-CH₂-imidazol).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 318.18 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 318.1831 [M+H]⁺ (calculada para C₁₇H₂₄N₃O₃: 318.1812).

Síntesis de *N*-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-*O*-bencilhidroxilamina (**36**)



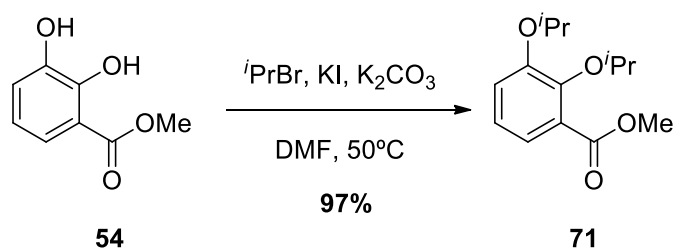
Una disolución del compuesto **70** (0.40 g, 1.26 mmol) en una mezcla 1:5 TFA/CH₂Cl₂ (12 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de este tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida recogiéndose 0.55 g (rendimiento cuantitativo) de *N*-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-*O*-bencilhidroxilamina (**36**) como un aceite amarillo claro.

RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 8.77 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-2 imidazol); 7.57-7.02 (m, 6H); 5.01 (s, 2H, OBn); 3.59 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₂-imidazol); 3.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₂-imidazol).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 134.2 (C, C-5 Imidazol); 133.6 (CH, C-2 Imidazol); 130.0 (C); 128.8 (CH); 128.7 (CH); 128.3 (CH); 116.7 (CH, C-4 Imidazol); 75.8 (CH₂, OBn); 48.5 (CH₂, CH₂-CH₂-imidazol); 20.7 (CH₂, CH₂-CH₂-imidazol).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 218.13 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 218.1302 [M+H]⁺ (calculada para C₁₂H₁₆N₃O: 218.1287).

Síntesis de 2,3-di-*iso*-propoxibenzoato de metilo (71)

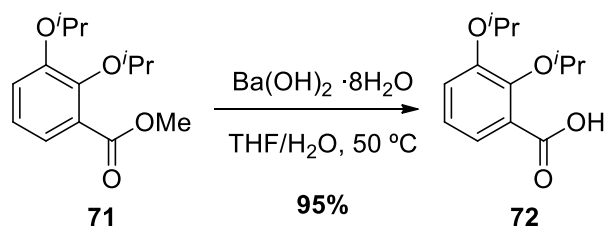
Sobre una suspensión del compuesto **54** (2.00 g, 11.61 mmol) en DMF (15 mL), se añadió KI (6.51 g, 40.52 mmol), K₂CO₃ (6.43 g, 46.41 mmol) y finalmente bromuro de *iso*-propilo. A continuación, se calentó a 50 °C durante toda la noche. Después de este tiempo, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se distribuyó entre CH₂Cl₂ (50 mL) y H₂O (50 mL). Se separaron las fases, la fracción orgánica se lavó con una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v (30 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (30 mL) y se secó con MgSO₄ anhidro. Después de eliminar el disolvente, se recogieron 2.92 g (rendimiento del 97%) de 2,3-di-*iso*-propoxibenzoato de metilo (**71**) como un aceite marrón oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.28 (dd, *J* = 6.4, 3.1 Hz, 1H, H-6); 7.04-6.98 (m, 2H, H-4/H-5); 4.51 (dhept, *J* = 12.3, 6.1 Hz, 2H, *i*Pr); 3.87 (s, 3H, OMe); 1.32 (d, *J* = 6.1 Hz, 6H, *i*Pr); 1.26 (d, *J* = 6.1 Hz, 6H, *i*Pr).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 167.6 (CO, C-7); 152.5 (C, C-2); 148.2 (C, C-3); 127.5 (C, C-1); 123.1 (CH, C-4); 122.6 (CH, C-5); 119.8 (CH, C-6); 76.0 (CH, *i*Pr); 71.5 (CH, *i*Pr); 51.8 (CH₃, OMe); 22.3 (CH₃, *i*Pr); 22.1 (CH₃, *i*Pr).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 275.13 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 275.1257 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂O₄Na: 274.1253).

Síntesis de ácido 2,3-di-*iso*-propoxibenzoico (**72**)

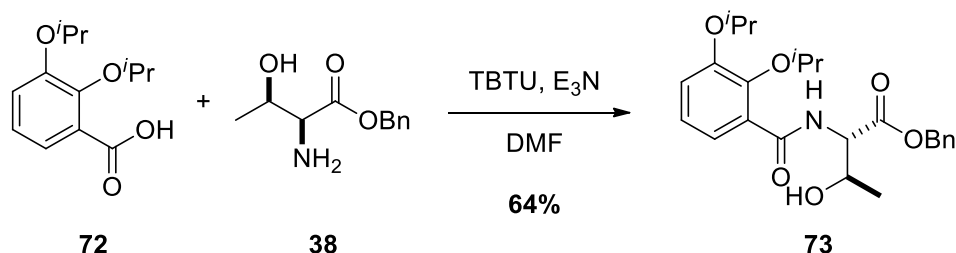
Sobre una disolución del éster **71** (2.80 g, 1.12 mmol), en una mezcla 1:1 THF/H₂O (30 mL), se añadió Ba(OH)₂·8H₂O (10.61 g, 33.31 mmol) y a continuación, se calentó a 50 °C durante toda la noche. Se llevó a temperatura ambiente y se acidificó con la resina de intercambio iónico Dowex® 50WX8 hasta pH 4, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida, recogiendo 2.53 g (rendimiento del 95%) de ácido 2,3-di-*iso*-propoxibenzoico (**72**) como un aceite marrón oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.73 (dd, *J* = 6.3, 3.2 Hz, 1H, H-6); 7.18-7.09 (m, 2H, H-4/H-5); 5.00 (hept, *J* = 6.3 Hz, 1H, ^{*i*}Pr); 4.58 (hept, *J* = 6.1 Hz, 1H, ^{*i*}Pr); 1.36 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H, ^{*i*}Pr); 1.35 (d, *J* = 6.1 Hz, 6H, ^{*i*}Pr).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 166.9 (CO, C-7); 150.2 (C, C-2); 146.4 (C, C-3); 124.9 (CH, C-4); 123.9 (CH, C-5); 123.5 (C, C-1); 120.3 (CH, C-6); 78.0 (CH, ^{*i*}Pr); 71.9 (CH, ^{*i*}Pr); 22.1 (CH₃, ^{*i*}Pr); 22.0 (CH₃, ^{*i*}Pr).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 239.13 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 239.1285 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₁₉O₄: 239.1277).

Síntesis de (2*S*,3*R*)-2-(2,3-di-*iso*-propoxibenzamido)-3-hidroxibutanoato de bencilo (73)

Sobre una disolución del ácido **72** (1.00 g, 4.21 mmol) en DMF (20 mL), se añadió la amina **38** (0.80 g, 3.82 mmol), el agente acoplante TBTU (1.35 g, 4.20 mmol) y Et₃N (1.33 mL, 9.55 mmol), dejándose agitar a temperatura ambiente durante toda la noche. Se diluyó con EtOAc (100 mL) y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (80 mL), H₂O (80 mL), ácido cítrico (0.1 M, 80 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (80 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [Hexano/EtOAc (4:1)], recogiendo 1.49 g (rendimiento del 64%) de (2*S*,3*R*)-2-(2,3-di-*iso*-propoxibenzamido)-3-hidroxibutanoato de bencilo (**73**) como un sólido amorfo amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 8.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH); 7.73 (dd, *J* = 7.5, 2.1 Hz, 1H, H-6); 7.44-7.29 (m, 5H); 7.14-6.97 (m, 2H, H-4/H-5); 5.23 (s, 2H, OBn); 4.95-4.74 (m, 2H, ⁱPr/H-8); 4.57 (hept, *J* = 6.1 Hz, 1H, ⁱPr); 4.48-4.31 (m, 1H, H-9); 1.42-1.31 (m, 9H, ⁱPr/Me); 1.32-1.19 (m, 6H, ⁱPr).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 170.9 (CO, C-7); 166.3 (CO, C-10); 150.8 (C, C-2); 146.7 (C, C-3); 135.3 (C); 128.6 (CH); 128.4 (CH); 128.3 (CH); 127.3 (C, C-1); 123.4 (CH, C-4); 123.3 (CH, C-5); 119.3 (CH, C-6); 76.0 (CH, ⁱPr); 71.3 (CH, ⁱPr); 68.5 (CH, C-9); 67.1 (CH₂, OBn); 58.1 (CH, C-8); 22.1 (CH₃, Me); 22.0 (CH₃, ⁱPr); 21.5 (CH₃, ⁱPr); 20.1 (CH₃, ⁱPr).

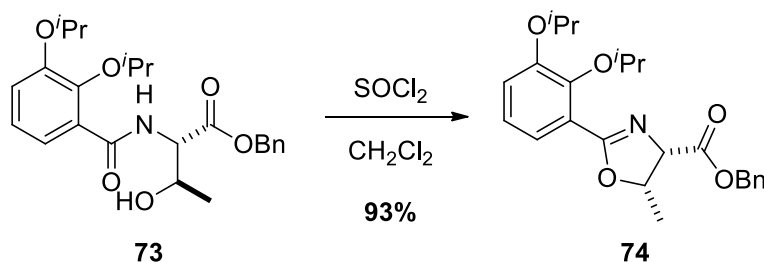
^[a] las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 452.21 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 452.2041 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₄H₃₁NO₆Na: 452.2043).

[α]_D²⁵ = +27.3 (c = 0.52, CHCl₃).

Síntesis de (4S,5S)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-5-metil-4,5-dihidroxazol-4-carboxilato de bencilo (74**)**



Sobre una disolución de la amida **73** (0.72 g, 1.68 mmol) en CH_2Cl_2 (20 mL) a 0 °C, se adicionó gota a gota SOCl_2 (0.74 mL, 10.12 mmol). A continuación, se llevó a temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Se introdujo el matraz de reacción dentro de un baño de agua y hielo y se neutralizó añadiendo gota a gota una disolución saturada de NaHCO_3 . Se extrajo con EtOAc (3 x 50 mL) y las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [Hexano/EtOAc (3:1)], recogiendo 0.64 g (rendimiento del 93%) de (4S,5S)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazoli-4-carboxilato de bencilo (**74**) como un aceite naranja oscuro.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.40-7.32 (m, 6H); 7.05-6.94 (m, 2H, H-4/H-5); 5.28-5.15 (m, 2H, OBn); 5.08-4.88 (m, 2H, H-8/H-9); 4.52 (dhept, $J = 8.6, 6.1$ Hz, 2H, ^iPr); 1.34 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, Me); 1.31 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, ^iPr); 1.30 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, ^iPr); 1.23 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, ^iPr), 1.22 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, ^iPr).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm:^[a] 169.8 (CO, C-7); 166.3 (C, C-10); 151.7 (C, C-2); 148.2 (C, C-3); 135.3 (C); 128.7 (CH); 128.5 (CH); 128.4 (CH); 123.8 (C, C-1); 123.5 (CH, C-4); 123.2 (CH, C-5); 120.2 (CH, C-6); 77.7 (CH, C-9); 75.9 (CH, ^iPr); 71.7 (CH, C-8); 71.5 (CH, ^iPr); 66.8 (CH_2 , OBn); 22.3 (CH_3 , ^iPr); 22.1 (CH_3 , ^iPr); 16.1 (CH_3 , Me).

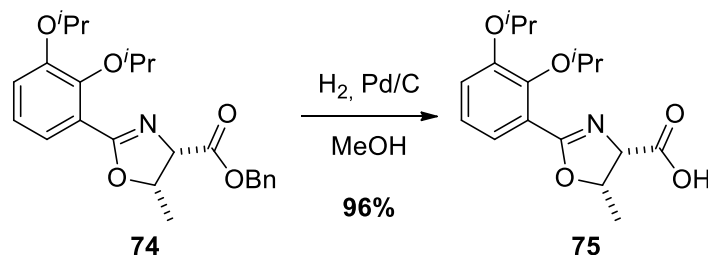
^[a] Las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS m/z : 412.21 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 412.2132 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{NO}_5$: 412.2118).

$[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ = +59.5 ($c = 0.95$, CHCl_3).

Síntesis de ácido (4*S*,5*S*)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxílico (**75**)



Una suspensión del éster bencílico **74** (0.55 g, 1.28 mmol) y una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo 5% en p/p (50 mg) en MeOH (25 mL), se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 2 h. Transcurrido este tiempo, se hizo pasar la disolución a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. Se recogieron 0.39 g (rendimiento del 96%) de ácido (4*S*,5*S*)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxílico (**75**) como un sólido grisáceo.

RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.33 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, H-6); 7.21 (dd, *J* = 8.3, 1.5 Hz, 1H, H-4); 7.12 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 5.67 (dc, *J* = 6.7, 3.1 Hz, 1H, H-9); 4.66 (hept, *J* = 6.0 Hz, 1H, ^{*i*}Pr), 4.58 (hept, *J* = 6.0 Hz, 1H, ^{*i*}Pr); 3.94 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, H-8); 1.45 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, Me); 1.36 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H, ^{*i*}Pr); 1.28 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, ^{*i*}Pr), 1.27 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, ^{*i*}Pr).

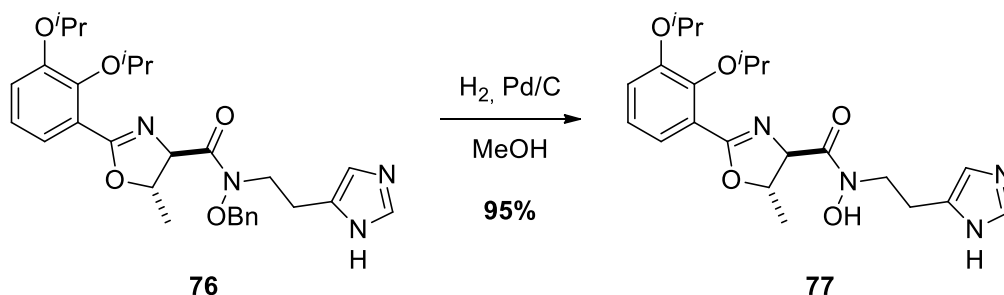
RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 170.7 (CO, C-10); 167.9 (C, C-7); 151.3 (C, C-2); 148.0 (C, C-3); 123.3 (C, C-4); 122.1 (CH, C-5); 120.1 (CH, C-6); 118.9 (C, C-1); 80.2 (CH, C-9); 76.3 (CH, ^{*i*}Pr); 71.1 (CH, ^{*i*}Pr); 68.7 (CH, C-8); 21.3 (CH₃, ^{*i*}Pr); 21.1 (CH₃, ^{*i*}Pr); 20.9 (CH₃, ^{*i*}Pr); 20.8 (CH₃, ^{*i*}Pr); 15.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 322.17 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 322.1666 [M+H]⁺ (calculada para C₁₇H₂₄NO₅: 322.1648).

[α]_D²⁴ = +19.5 (*c* = 0.62, CH₃OH).

Síntesis de (4*R*,5*S*)-*N*-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-*N*-hidroxi-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxamida (77**)**



Sobre una disolución del compuesto **76** (0.20 g, 0.38 mmol) en MeOH (10 mL), se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p (20 mg) y se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H₂ (1 atm) durante 2 h. Al cabo de este tiempo, se filtró a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida, recogiendo 0.15 g (rendimiento del 95%) de (4*R*,5*S*)-*N*-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-2-(2,3-di-*iso*-propoxifenil)-*N*-hidroxi-5-metil-4,5-dihidrooxazol-4-carboxamida (**77**) como un sólido amorfo amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 8.70 (s, 1H, H-15); 7.34 (s, 1H, H-14); 7.25 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H, H-6); 7.20 (dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, 1H, H-4); 7.08 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-5); 5.77 (dc, *J* = 6.7, 2.3 Hz, 1H, H-9); 4.69 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-8); 4.66-4.47 (m, 2H, *i*Pr); 4.07 (dt, *J* = 13.6, 6.5 Hz, 1H, H-11b); 3.90 (dt, *J* = 13.7, 6.5 Hz, 1H, H-11a); 3.10 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-12); 1.50 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, Me); 1.37-1.19 (m, 12H, *i*Pr).

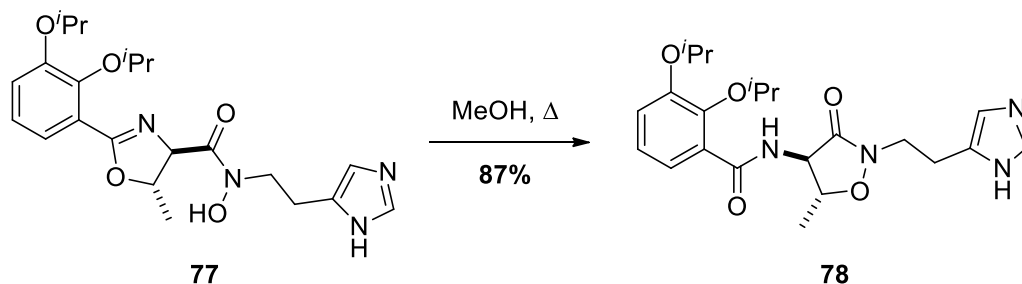
RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 167.8 (CO, C-10); 166.4 (C, C-7); 152.9 (C, C-2''); 148.4 (C, C-3''); 134.9 (CH, C-15); 132.2 (C, C-13); 127.8 (C, C-1); 124.7 (CH, C-6); 123.2 (CH, C-5); 120.4 (CH, C-4); 117.8 (CH, C-14); 77.4 (CH, *i*Pr); 72.2 (CH, *i*Pr); 68.7 (CH, C-9); 55.7 (CH, C-8); 48.2 (CH₂, C-11); 22.5 (CH₂, C-12); 22.4 (CH₃, *i*Pr); 22.3 (CH₃, *i*Pr); 22.0 (CH₃, *i*Pr); 21.9 (CH₃, *i*Pr); 17.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 431.23 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 431.2293 [M+H]⁺ (calculada para C₂₂H₃₁N₄O₅: 431.2288).

[α]_D²³ = +19.4 (*c* = 0.25, CH₃OH).

Síntesis de (4*R*,5*R*)-*N*-(2-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-5-metil-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-di-*iso*-propoxibenzamida (78)



Una disolución del compuesto **77** (0.13 g, 0.30 mmol) en MeOH (20 mL) se agitó a reflujo durante 1 h. Al cabo de este tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (90:10)], recogiendo 0.11 g (rendimiento del 87%) de (4*R*,5*R*)-*N*-(2-(2-(1*H*-imidazol-5-il)etil)-5-metil-3-oxoisoxazolidin-4-il)-2,3-di-*iso*-propoxibenzamida (**78**) como un aceite amarillo claro.

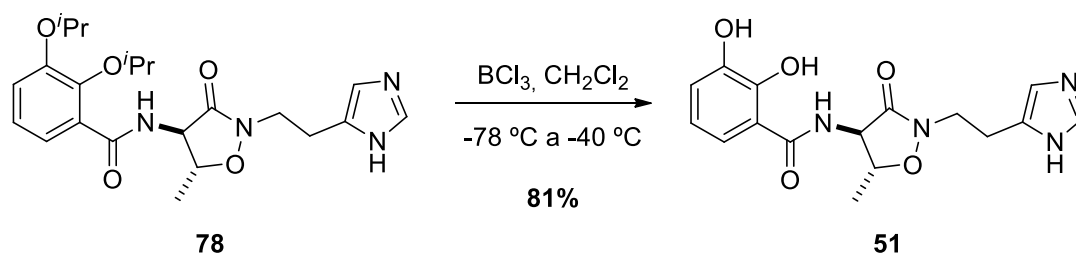
RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.66 (s, 1H, H-15); 7.42 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, 1H, H-6); 7.19 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, 1H, H-4); 7.13 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H, H-5); 6.97 (s, 1H, H-14); 4.76 (hept, *J* = 6.2 Hz, 1H, ^{*i*}Pr); 4.72 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, H-8); 4.66 (hept, *J* = 6.1 Hz, 1H, ^{*i*}Pr); 4.42 (dc, *J* = 10.4, 6.1 Hz, 1H, H-9); 3.92 (dt, *J* = 13.9, 6.9 Hz, 1H, H-11b); 3.85 (dt, *J* = 14.0, 6.9 Hz, 1H, H-11a); 2.99 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-12); 1.53 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H, Me); 1.36 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H, ^{*i*}Pr); 1.33 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H, ^{*i*}Pr); 1.29 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H, ^{*i*}Pr).

RMN-¹³C (125 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 169.1 (CO, C-10); 168.4 (CO, C-7); 152.4 (C, C-2); 147.5 (C, C-3); 136.3 (CH, C-15); 129.6 (C, C-1); 124.9 (CH, C-6); 122.9 (CH, C-5); 120.3 (CH, C-4); 118.0 (CH, C-14); 81.1 (CH, C-9); 77.4 (CH, ^{*i*}Pr); 72.5 (CH, ^{*i*}Pr); 59.5 (CH, C-8); 46.0 (CH₂, C-11); 25.3 (CH₂, C-12); 22.6 (CH₃, ^{*i*}Pr); 22.4 (CH₃, ^{*i*}Pr); 22.3 (CH₃, ^{*i*}Pr); 22.2 (CH₃, ^{*i*}Pr); 17.5 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 431.23 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 431.2305 [M+H]⁺ (calculada para C₂₂H₃₁N₄O₅: 431.2288).

[α]_D²⁶ = +25.9 (*c* = 0.52, CH₃OH).

Síntesis de *ent*-acinetobactina (**51**)

Sobre una disolución del compuesto **78** (50 mg, 0.12 mmol), en CH_2Cl_2 (12 mL) enfriada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se añadió, gota a gota, una disolución 1 M de BCl_3 en CH_2Cl_2 (0.81 mL, 0.81 mmol). Se dejó alcanzar lentamente $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó toda la noche. Al cabo de este tiempo, se añadió H_2O (5 mL) a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante 20 min. Posteriormente, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® XS F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm) con una fase móvil consistente en gradiente 10% CH_3CN en H_2O (v/v) conteniendo 0.1% TFA hasta 80% CH_3CN en 40 min a un flujo de 1.0 mL/min ($t_R = 11.6$ min, $\lambda = 254, 280, 320$ nm), recogiendo 34 mg (rendimiento del 81%) de *ent*-acinetobactina (**51**) como un sólido amorfo beige.

RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD), δ_{H} ppm: 8.78 (s, 1H, H-15); 7.41 (s, 1H, H-14); 7.18 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H, H-6); 6.91 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H, H-4); 6.68 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H, H-5); 4.63-4.51 (m, 2H, H-8/H-9); 3.97 (dt, $J = 14.7, 6.5$ Hz, 1H, H-11b); 3.84 (dt, $J = 14.7, 6.2$ Hz, 1H, H-11a); 3.07 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, H-12); 1.40 (d, $J = 5.4$ Hz, 3H, Me).

RMN- ^{13}C (125 MHz, CD_3OD), δ_{C} ppm: 171.7 (CO, C-10); 169.1 (CO, C-7); 150.2 (C, C-2); 147.4 (C, C-3); 135.0 (CH, C-15); 132.0 (C, C-13); 120.2 (CH, C-4); 119.9 (CH, C-5); 119.0 (CH, C-6); 118.2 (CH, C-14); 116.3 (C, C-1); 79.7 (CH, C-9); 59.4 (CH, C-8); 44.9 (CH_2 , C-11); 23.2 (CH_2 , C-12); 17.2 (Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 347.14 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

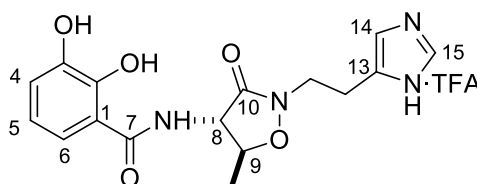
(+)-HR-ESIMS m/z : 347.1361 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_5$: 347.1349).

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +22.0$ ($c = 0.60$, CH_3OH).

2.3 Aislamiento de acinetobactina (22b)

A partir de un cultivo de *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, se obtuvo 1 L de sobrenadante filtrado y centrifugado, se congeló y posteriormente se liofilizó para dar 19.12 g de extracto. 4 g de este material liofilizado se disolvieron en H₂O (4 mL), se dividieron y se pasaron a través de cuatro cartuchos OASIS[®] HLB (35 cm³, 6 g). Para hacer la separación, cada cartucho fue previamente acondicionado con 60 mL de CH₃CN (disolvente B) y 60 mL de H₂O (disolvente A), conteniendo cada uno un 0.1% de TFA (v/v), posteriormente se cargó la muestra de liofilizado suspendida en H₂O. Después se eluyeron los compuestos con 60 mL de las siguientes mezclas del disolvente A y el disolvente B: 1:0, 9:1, 8:2, 7:3 y 0:1. Después de la separación, se conservó la fracción eluida con una mezcla de H₂O y CH₃CN (8:2), que es la fracción activa. Se concentró en el rotavapor a 25 °C para retirar el CH₃CN, se congeló y se liofilizó para dar 86.3 mg de residuo que contiene acinetobactina.

Esta fracción fue finalmente purificada por HPLC utilizando una columna Discovery[®] HS F5 (100 x 4.6 mm, 5 µm) con una fase móvil consistente en un gradiente de 40 min que va desde un 10% a un 50% de CH₃CN en H₂O (v/v, conteniendo cada uno un 0.1% de TFA), con un flujo de 1 mL/min. Las fracciones que contienen acinetobactina (16.9% CH₃CN en H₂O, *t_R* = 11.6 min) fueron reunidas y concentradas a vacío. Esta separación permitió obtener 13.4 mg de acinetobactina pura.



acinetobactina·TFA
(22b·TFA)

RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 8.78 (s, 1H, H-15); 7.41 (s, 1H, H-14); 7.18 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H, H-6); 6.90 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, H-4); 6.68 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-5); 4.55-4.48 (m, 2H, H-8/H-9); 3.96 (dt, *J* = 14.8, 6.5 Hz, 1H, H-11b); 3.84 (dt, *J* = 14.8, 6.1 Hz, 1H, H-11a); 3.07 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, H-12); 1.40 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H, Me).

RMN-¹³C (125 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 171.7 (CO, C-10); 169.1 (CO, C-7); 150.2 (C, C-2); 147.4 (C, C-3); 135.0 (CH, C-15); 132.0 (C, C-13); 120.2 (CH, C-4); 119.9 (CH, C-5); 119.0 (CH, C-6); 118.2 (CH, C-14); 116.3 (C, C-1); 79.7 (CH, C-9); 59.5 (CH, C-8); 44.8 (CH₂, C-11); 23.2 (CH₂, C-12); 17.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 347.14 [M+H]⁺.

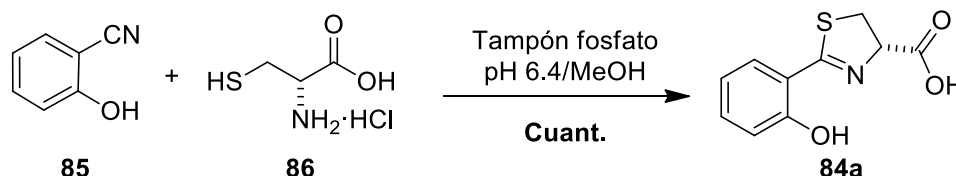
(+)-HR-ESIMS *m/z*: 347.1361 [M+H]⁺ (calculada para C₁₆H₁₉N₄O₅: 347.1349).

[α]_D²³ = -29.7 (CH₃OH, *c* = 0.65).

3. Compuestos obtenidos en el Capítulo III

3.1. Síntesis de prepiscibactina (80)

Síntesis de ácido (4S)-2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidro-tiazol-4-carboxílico (84a)



Se disolvieron 2-cianofenol (**85**) comercial (1.00 g, 8.41 mmol) e hidrocloreuro de D-cisteína (**86**) comercial (2.60 g, 16.83 mmol) en una mezcla 1:1 metanol/disolución tampón 0.1 M de fosfato a pH 6.4 (80 mL), y la disolución se ajustó a pH 6.4 adicionando K_2CO_3 sólido. Después de toda la noche agitando a 60 °C, la mezcla se concentró a presión reducida y el crudo se disolvió en H_2O (50 mL). Se llevó a pH 2-3 con una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 mL), se combinaron las fases orgánicas y se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 1.93 g (rendimiento cuantitativo) de ácido (4S)-2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidro-tiazol-4-carboxílico (**84a**) como un polvo amarillo.

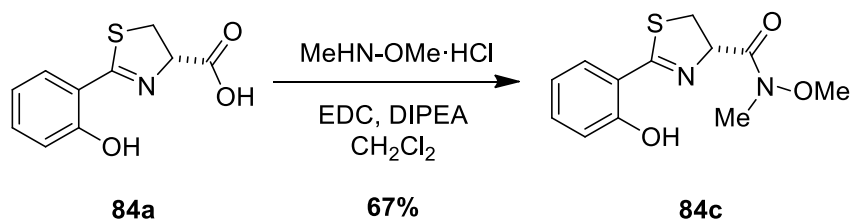
RMN- 1H (300 MHz, CD_3OD), δ_H ppm: 7.42-7.30 (m, 2H, H-3/H-5); 6.93 (dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, 1H, H-6); 6.85 (t, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 1H, H-4); 5.37 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-9); 3.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-8).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CD_3OD), δ_C ppm: 175.1 (C, C-10); 173.3 (C, C-7); 160.0 (C, C-1); 134.5 (CH, C-5); 131.7 (CH, C-3); 120.1 (CH, C-4); 117.9 (CH, C-6); 117.1 (C, C-2); 77.9 (CH, C-9); 34.4 (CH_2 , C-8).

(+)-LR-ESIMS m/z : 224.04 $[M+H]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 224.0385 $[M+H]^+$ (calculada para $C_{10}H_{10}NO_3S$: 224.0375).

$[\alpha]_D^{26}$ = -49.1 ($c = 0.24$, $CHCl_3$).

Síntesis de (4S)-2-(2-hidroxifenil)-N-metoxi-N-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (84c)

Sobre una disolución de la tiazolina **84a** (1.00 g, 4.52 mmol) y EDC (0.95 g, 4.91 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL), enfriada a 0 °C, se adicionó otra disolución de hidrocloreuro de *N,O*-dimetilhidroxilamina (0.52 g, 5.38 mmol) y DIPEA (0.93 mL, 5.41 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL). Se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante 2 h, después de este tiempo se lavó con una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v (8.5 mL) y la fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/ Et_2O (1:1)] recogiendo 0.81 g (rendimiento del 67%) de (4S)-2-(2-hidroxifenil)-*N*-metoxi-*N*-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**84c**) como un sólido amarillo.

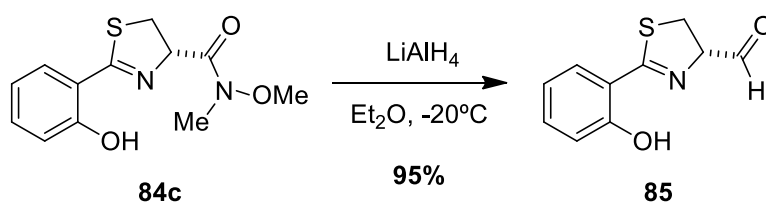
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.42 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1.6 Hz, 1H, H-3); 7.35 (dt, $J = 8.3$, 1.6 Hz, 1H, H-5); 6.98 (dd, $J = 8.3$, 1.2 Hz, 1H, H-6); 6.87 (dt, $J = 7.8$, 1.2 Hz, 1H, H-4); 5.69 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-9); 3.83 (s, 3H, OCH_3); 3.81-3.71 (m, 1H, H-8b); 3.47 (dd, $J = 11.0$, 9.2 Hz, 1H, H-8a); 3.29 (s, 3H, NCH_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz CDCl_3), δ_{C} ppm: 174.08 (CO, C-10); 169.7 (C, C-7); 159.0 (C, C-1); 133.3 (CH, C-5); 130.8 (CH, C-3); 119.0 (CH, C-4); 117.2 (CH, C-6); 116.3 (C, C-2); 74.6 (CH, C-9); 61.8 (CH_3 , OCH_3); 32.9 (CH_2); 32.6 (CH_3 , NCH_3).

(+)-LR-ESIMS m/z : 267.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 267.0796 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: 267.0797).

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -19.6$ ($c = 0.65$, CH_3OH).

Síntesis de (4S)-2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carbaldehído (**85**)

A una disolución de la amida de Weinreb **84c** (0.20 g, 0.76 mmol) en Et_2O (10 mL), enfriada a -20°C , se le añadió hidruro de litio y aluminio (80 mg, 0.53 mmol) y la suspensión resultante se agitó a -20°C durante 15 min. Al cabo de este tiempo, se paró la reacción con sucesivas adiciones de metanol (2 mL), una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (15 mL) y otra disolución acuosa de H_2SO_4 al 5% en v/v (4 mL). La mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó vigorosamente hasta que se observó la separación de las dos fases. La fase acuosa fue extraída con CH_2Cl_2 ($2 \times 30\text{ mL}$), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 anhidro y se evaporó el disolvente. Este crudo, al ser muy sensible, fue usado inmediatamente en el siguiente paso sintético sin más purificación. Se obtuvieron 0.15 g (rendimiento del 95%) de (4S)-2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carbaldehído (**85**) como un sólido amorfo amarillo.

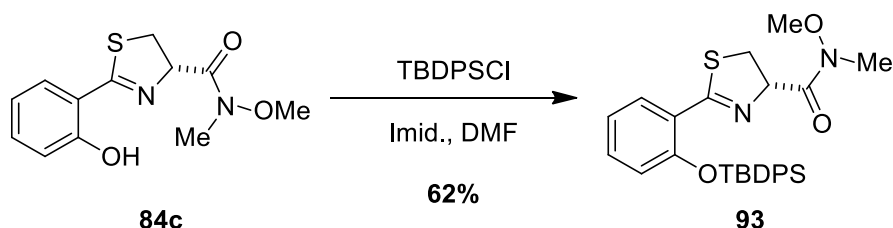
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 9.89 (s, 1H, H-10); 7.45-7.37 (m, 2H, H-5/H-3); 7.03 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H, H-6); 6.90 (td, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H, H-4); 5.31 (dd, $J = 9.8, 6.1$ Hz, 1H, H-9); 3.77 (dd, $J = 11.2, 6.1$ Hz, 1H, H-8b), 3.49 (dd, $J = 11.2, 9.8$ Hz, 1H, H-8a).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 196.4 (C, C-10); 182.5 (C, C-7); 161.4 (C, C-1); 133.8 (CH); 131.9 (CH); 129.8 (CH); 126.5 (CH); 124.1 (CH); 82.2 (CH, C-9); 29.5 (CH_2 , C-8).

(+)-LR-ESIMS m/z : 208.04 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 208.0427 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{S}$: 208.0426).

Síntesis de (4S)-2-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)fenil)-*N*-metoxi-*N*-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (93**)**



Una disolución de la amida de Weinreb **84c** (0.10 g, 0.38 mmol) en DMF (3 ml) se enfrió en un baño de hielo/agua y se añadió TBDPSCI (0.20 mL, 0.78 mmol) e imidazol (0.11 g, 1.64 mmol). Después de 24 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc (15 mL) y se lavó con H₂O (10 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (10 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente. El crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1)] recogiendo 0.12 g (rendimiento del 62%) de (4S)-2-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)fenil)-*N*-metoxi-*N*-metil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxamida (**93**) como un sólido amorfo amarillo.

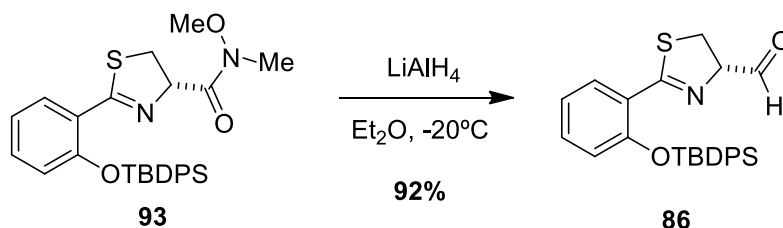
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.78-7.73 (m, 5H); 7.43-7.33 (m, 6H); 6.92-6.80 (m, 2H); 6.41 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, H-6); 5.58 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, H-9); 3.87 (s, 3H, OCH₃); 3.81-3.71 (m, 1H, H-8b); 3.47 (dd, *J* = 11.0, 9.2 Hz, 1H, H-8a); 3.32 (sa, 3H, NCH₃); 1.12 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 171.2 (CO, C-10); 167.9 (C, C-7); 153.7 (C, C-1); 135.5 (CH); 132.5 (C); 132.4 (C); 131.1 (CH); 130.5 (CH); 130.1 (CH); 130.0 (CH); 128.0 (CH); 124.5 (C, C-2); 120.8 (CH); 120.2 (CH); 74.8 (CH, C-9); 62.0 (CH₃, OCH₃); 35.2 (CH₂, C-8); 32.6 (CH₃, NCH₃); 26.5 (CH₃, ^{*t*}Bu).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 505.19 [M+H]⁺.

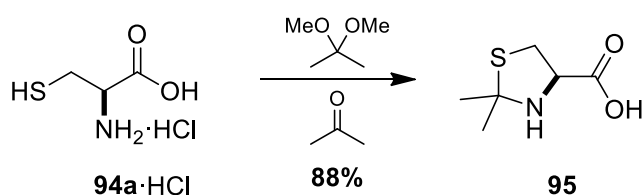
(+)-HR-ESIMS *m/z*: 505.1952 [M+H]⁺ (calculada para C₂₈H₃₃N₂O₃Si: 505.1975).

Síntesis de (4S)-2-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)fenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carbaldehído (86**)**



Sobre una disolución de la amida de Weinreb **93** (0.12 g, 0.24 mmol) en Et_2O (4.50 mL), enfriada a -20°C , se añadió hidruro de litio y aluminio (27 mg, 0.71 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 min. Después de este tiempo, se paró la reacción con sucesivas adiciones de metanol (1 mL), una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (8 mL) y otra disolución acuosa de H_2SO_4 al 5% en v/v (8 mL). Se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó vigorosamente hasta que se observó la separación de las dos fases. La fase acuosa fue extraída con CH_2Cl_2 ($2 \times 15\text{ mL}$), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 anhidro y se evaporó el disolvente. El producto, al ser muy sensible, fue usado inmediatamente en el siguiente paso sintético sin más purificación. Se recogieron 97 mg (rendimiento del 92%) de (4S)-2-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)fenil)-4,5-dihidrotiazol-4-carbaldehído (**86**) como un sólido amorfo naranja.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 9.82 (s, 1H, H-10); 7.75-7.70 (m, 5H); 7.43-7.35 (m, 6H); 7.06-6.85 (m, 3H); 5.31 (dd, $J = 9.5, 6.1$ Hz, 1H, H-9); 3.74 (dd, $J = 11.0, 6.1$ Hz, 1H, H-8b), 3.49 (dd, $J = 11.0, 5.9$ Hz, 1H, H-8a); 1.07 (s, 9H, *t*Bu).

Síntesis de ácido (4*R*)-2,2-dimetiltiazolidin-4-carboxílico (95)

Sobre una suspensión del hidrocloreto de L-cisteína (**94a·HCl**) comercial (5.00 g, 28.31 mmol) en acetona (100 mL) se añadió 2,2-dimetoxipropano (17.00 mL, 141.51 mmol) y se agitó a reflujo durante 4 días. Al cabo de este tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se filtró. El filtrado recogido se secó a vacío recogándose 4.82 g (rendimiento del 88%) de ácido (4*R*)-2,2-dimetiltiazolidina-4-carboxílico (**95**) como un sólido cristalino blanco.

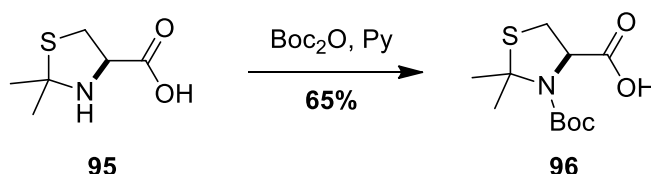
RMN-¹H (300 MHz, D₂O), δ_H ppm: 4.87 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-2); 3.62 (dd, *J* = 12.2, 8.1 Hz, 1H, H-3b); 3.49 (dd, *J* = 12.2, 8.1 Hz, 1H, H-3a), 1.76 (s, 3H, CH₃); 1.74 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, D₂O), δ_C ppm: 169.9 (CO, C-1); 72.9 (C); 62.0 (CH, C-2); 31.6 (CH₂, C-3); 27.7 (CH₃); 26.7 (CH₃).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 162.06 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 162.0581 [M+H]⁺ (calculada para C₆H₁₂NO₂S: 162.0583).

Síntesis de ácido (4*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiltiazolidina-4-carboxílico (96)



Sobre una disolución del ácido carboxílico **95** (4.60 g, 28.40 mmol) en piridina (25 mL), enfriada a 0 °C, se añadió Boc_2O (6.81 g, 31.34 mmol) y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de este tiempo, se distribuyó la disolución entre EtOAc (200 mL) y una disolución acuosa de HCl al 5% en v/v (200 mL), la fracción orgánica se lavó con H_2O (200 mL) y con disolución saturada de NaCl (200 mL), se secó sobre MgSO_4 anhidro y se filtró. Después de concentrarse a presión reducida, se recogieron 4.83 g (rendimiento del 65%) de ácido (4*R*)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiltiazolidina-4-carboxílico (**96**) como un sólido cristalino blanco.

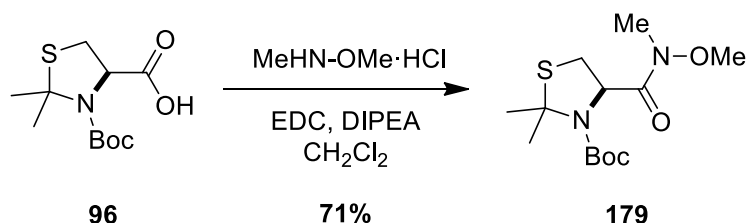
RMN- ^1H (300 MHz, CD_3OD), δ_{H} ppm: 4.83 (dd, $J = 7.0, 3.0$ Hz, 1H, H-2); 3.36 (dd, $J = 12.2, 7.0$ Hz, 1H, H-3b); 3.13 (dd, $J = 12.2, 3.0$ Hz, 1H, H-3a); 1.84 y 1.78 (2 s, 6H, 2 X CH_3); 1.52 y 1.44 (2 s, 9H, ^tBu). Rotámeros *E/Z* (1:2).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CD_3OD), δ_{C} ppm: 172.9 y 172.8 (CO, C-1); 153.3 y 152.2 (CO, Boc); 81.0 y 80.3 (C, Boc); 71.3 y 69.9 (C); 66.1 y 65.6 (CH, C-2); 30.1 y 29.8 (CH_2 , C-3); 28.5 (CH_3 , Me); 27.7 (CH_3 , Me); 26.9 (CH_3 , ^tBu). Rotámeros *E/Z* (1:2).

(+)-LR-ESIMS m/z : 262.11 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 262.1111 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{NO}_4\text{S}$: 262.1107).

Síntesis de (4*R*)-4-(metoxi(metil)carbamoil)-2,2-dimetiltiazolidina-3-carboxilato de *tert*-butilo (179**)**



Sobre una disolución del ácido **96** (1.00 g, 3.83 mmol) y el agente acoplante EDC (0.80 g, 4.20 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL), enfriada a 0 °C, se adicionó otra disolución de hidrocloreuro de *N,O*-dimetilhidroxilamina (0.45 g, 4.59 mmol) y DIPEA (0.82 mL, 4.59 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL). Después de agitarse toda la noche a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a vacío. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica en gel de sílice [EtOAc/hexano (1:2)], recogiendo 0.83 g (rendimiento del 71%) de (4*R*)-4-(metoxi(metil)carbamoil)-2,2-dimetiltiazolidina-3-carboxilato de *tert*-butilo (**179**) como un sólido cristalino blanco.

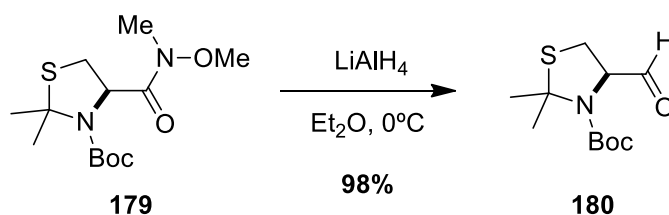
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.17 y 5.05 (2 sa, 1H, H-2); 3.77 y 3.73 (2 s, 3H, OCH₃); 3.33 (dd, *J* = 12.2, 7.3 Hz, 1H, H-3b); 3.22 (s, 3H, NCH₃); 2.98 (dd, *J* = 12.2, 4.0 Hz, 1H, H-3a); 1.79, 1.83, 1.89, 1.90 (4 s, 6H, 2 x CH₃); 1.49 y 1.41 (2 s, 9H, ^tBu). Rotámeros *E/Z* (1:1).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 171.5 y 170.7 (CO, C-1); 152.7 y 151.6 (CO, Boc); 80.6 y 80.2 (C, Boc); 71.9 y 70.3 (C); 64.7 y 63.9 (CH, C-2); 61.2 (CH₃, OMe); 32.5 (CH₃, NMe); 30.8 (CH₃, Me); 30.1 y 29.8 (CH₂, C-3); 29.3 y 28.8 (CH₃, Boc). Rotámeros *E/Z* (1:1).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 305.15 [M+H]⁺.

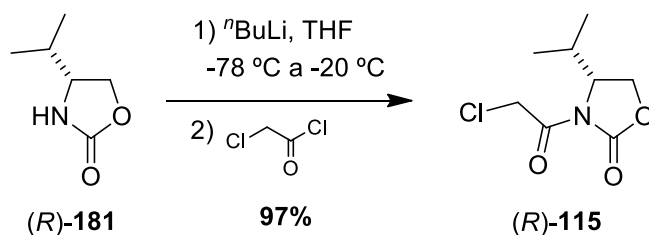
(+)-HR-ESIMS *m/z*: 305.1540 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₂₅N₂O₄S: 305.1529).

Síntesis de (4*R*)-4-formil-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (**180**)



Sobre una disolución de la amida de Weinreb **179** (0.50 g, 1.64 mmol) en Et₂O (16.00 mL) enfriada a 0 °C, se añadió hidruro de litio y aluminio (0.19 g, 4.93 mmol). Después de 45 min a 0 °C, se añadió EtOAc (7.50 mL), NaH₂PO₄ (4.51g), una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (4.50 mL) y MgSO₄ anhidro. Se agitó esta suspensión durante 15 minutos y después se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se hizo un filtrado rápido sobre gel de sílice [EtOAc/hexano (1:6)], recogiendo 0.40 g (rendimiento del 98%) de (4*R*)-4-formil-2,2-dimetiltiazolidina-3-carboxilato de *terc*-butilo (**180**) como un sólido cristalino blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 9.58 (s, 1H, H-1); 4.71 y 4.54 (2 sa, 1H, H-2); 3.24-3.0 (m, 2H, H-3); 1.86 y 1.80 (2 s, 6H, 2 x CH₃); 1.49 y 1.44 (s, 9H, ^tBu). Rotámeros *E/Z* (1:1).

Síntesis de (4*R*)-3-(cloroacetil)-4-iso-propiloxazolidin-2-ona ((*R*)-115)

Se añadió $^n\text{BuLi}$ (1.88 mL, 2.5 M, 4.70 mmol) gota a gota a una disolución de (*R*)-4-isopropiloxazolidin-2-ona ((*R*)-**181**) comercial (0.61 g, 4.61 mmol) en THF (24 mL) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, después la mezcla de reacción se agitó a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min. La mezcla se volvió a enfriar a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ y se añadió una disolución previamente preparada de cloruro de cloroacetilo (recién destilado, 0.370 mL, 4.6 mmol) en THF (3 mL), la reacción se dejó venir lentamente a temperatura ambiente. Se añadió una disolución tampón 1 M de fosfato a pH 7 (50 mL), se agitó 15 min y después se separaron las dos fases, la fase acuosa se extrajo con Et_2O (2 x 100 mL), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/ Et_2O (1:1)], recogiénose 0.92 g (rendimiento del 97%) de (4*R*)-3-(2-cloroacetil)-4-isopropiloxazolidin-2-ona ((*R*)-**115**) como un sólido cristalino blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 4.73 (s, 1H, H-1b); 4.71 (s, 1H, H-1a); 4.46 (ddd, $J = 8.2, 3.6, 3.3\text{ Hz}$, 1H, H-5); 4.35 (dd, $J = 9.1, 8.2\text{ Hz}$, 1H, H-4b); 4.27 (dd, $J = 9.1, 3.2\text{ Hz}$, 1H, H-4a); 2.48-2.36 (dhept, $J = 6.9, 3.9\text{ Hz}$, 1H); 0.93 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 3H, ^iPr); 0.89 (d, $J = 6.9\text{ Hz}$, 3H, ^iPr).

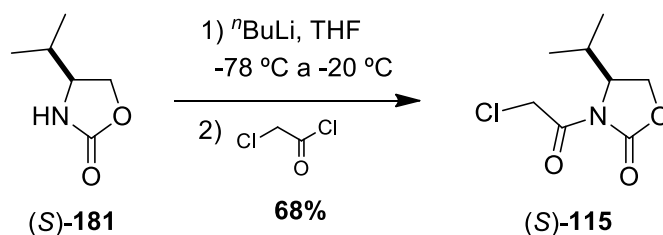
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 166.0 (CO, C-2); 153.7 (CO, C-3); 64.2 (CH_2 , C-4); 58.8 (CH, C-5); 43.6 (CH_2 , C-1); 28.1 (CH, ^iPr); 18.8 (CH_3 , ^iPr); 14.6 (CH_3 , ^iPr).

(+)-LR-ESIMS m/z : 206.06 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 206.0581 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Cl}$: 206.0578).

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ = -83.0 ($c = 1.95$, CHCl_3).

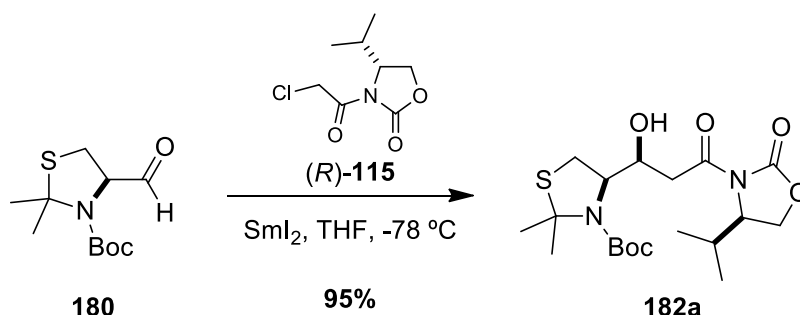
Síntesis de (4S)-3-(2-cloroacetil)-4-isopropiloxazolidin-2-ona ((S)-115)



Se añadió $^n\text{BuLi}$ (0.20 mL, 2.1 M, 0.42 mmol) gota a gota a una disolución de (S)-4-isopropiloxazolidin-2-ona ((S)-**181**) comercial (50 mg, 0.39 mmol) en THF (2 mL) a -78°C , después la mezcla de reacción se agitó a -20°C durante 30 min. La mezcla se volvió a enfriar a -78°C y se añadió una disolución previamente preparada de cloruro de cloroacetilo (recién destilado, 0.03 mL, 0.39 mmol) en THF (1 mL), la reacción se dejó alcanzar lentamente temperatura ambiente. Se añadió una disolución tampón fosfato 1 M (pH 7), se agitó 15 min y después se separaron las dos fases; la fase acuosa se extrajo con Et_2O (2 x 25 mL), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/ Et_2O (1:1)], obteniendo 0.11 g (rendimiento del 68%) de (4S)-3-(2-cloroacetil)-4-isopropiloxazolidin-2-ona ((S)-**115**) como un sólido cristalino blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 4.74 (s, 1H, H-1b); 4.72 (s, 1H, H-1a); 4.46 (ddd, $J = 8.2, 3.6, 3.3$ Hz, 1H, H-5); 4.36 (dd, $J = 9.1, 8.2$ Hz, 1H, H-4b); 4.27 (dd, $J = 9.1, 3.3$ Hz, 1H, H-4a); 2.48-2.36 (dhept, $J = 6.9, 3.9$ Hz, 1H); 0.94 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, ^iPr); 0.89 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, ^iPr).

Síntesis de (4R)-4-((3S)-1-hidroxi-3-((4R)-4-iso-propil-2-oxazolidin-3-il)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (182a)



Preparación de Sml₂ en THF 0.1 M.

Se preparó una suspensión de Sm (0.85 g, 5.63 mmol) y I₂ (1.13 g, 4.51 mmol) en THF (45 mL) protegiéndose de la luz. Después de 2 h el color de la suspensión pasó de marrón a azul oscuro, lo cual indicó la completa formación de Sml₂. Esta disolución se usó inmediatamente.

Se disolvieron conjuntamente el aldehído **180** (0.21 g, 0.88 mmol) y el cloruro (R)-**115** (0.15 g, 0.73 mmol) en THF (2.25 mL) y se añadieron gota a gota sobre una disolución de Sml₂ 0.1 M (22 mL) enfriada previamente a -78 °C. Después de agitarse 10 min, se hizo burbujear aire con un bomba de columna hasta que el color de la reacción cambió de azul a marrón-verde. Una vez que se alcanzó temperatura ambiente, se añadió una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (30 mL) y se mantuvo la agitación durante 20 min. Entonces se extrajo la mezcla con Et₂O (3 x 50 mL), las fases orgánicas combinadas se lavaron con una disolución acuosa de Na₂S₂O₃ al 10 % en p/v (100 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente bajo presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice [hexano/Et₂O (1:1)], recogiendo 0.34 g (rendimiento del 93%) de (4R)-4-((3S)-1-hidroxi-3-((4R)-4-isopropil-2-oxazolidin-3-il)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-bu-tilo (**182a**) como un sólido amorfo blanco.

Para determinar el exceso diastereomérico de la reacción se purificó una alícuota del crudo de reacción mediante HPLC usando una columna Eclipse® XDB-C18 (150 x 4.6 mm, 5 µm), a una λ de 210 nm, con una fase móvil que consistió en un isocrático 60% CH₃CN en H₂O (v/v) y un flujo de 1.0 mL/min.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.54 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-3); 4.43 (ddd, *J* = 7.6, 3.6, 3.5 Hz, 1H, H-3'); 4.38 (m, 1H, H-4); 4.27 (dd, *J* = 9.1, 8.1 Hz, 1H, H-2'b); 4.21 (dd, *J* = 9.1, 3.2 Hz, 1H, H-2'a); 3.25 (dd, *J* = 15.8, 3.2 Hz, 1H, H-5b); 3.19 (dd, *J* = 12.5, 6.4 Hz, 1H, H-2b); 3.12 (dd, *J* = 15.8, 9.1 Hz, 1H, H-5a); 2.83 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H, H-2a); 2.38 (dhept,

$J = 6.9, 3.9$ Hz, 1H, i Pr); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.77 (s, 3H, CH₃); 1.48 (s, 9H, t Bu); 0.91 (d, $J = 7.0$, 3H, i Pr); 0.88 (d, $J = 7.0$, 3H, i Pr).

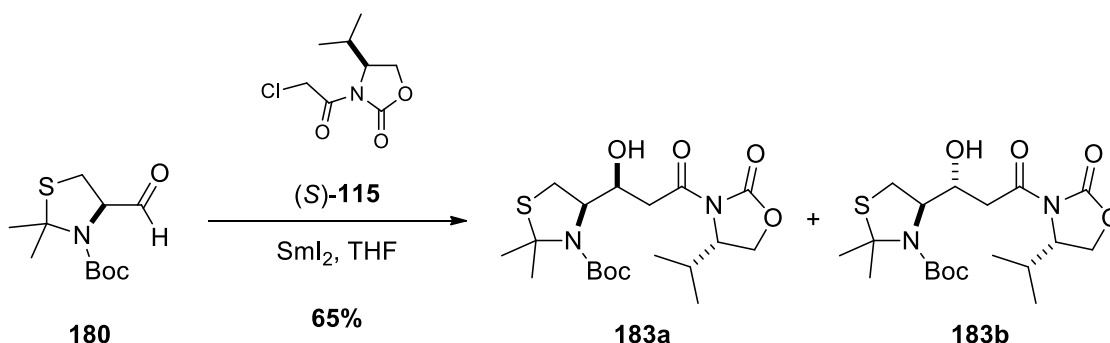
RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_c ppm: 171.5(CO, C-1); 171.1 (CO, C-1'); 154.1 (CO, Boc); 81.2 (C, Boc); 70.6 (CH, C-3); 67.2 (CH, C-4); 63.5 (CH₂, C-2'); 60.1 (C); 58.4 (CH, C-3'); 40.8 (CH₂, C-2); 30.3 (CH, i Pr); 29.2 (CH₂, C-5); 28.4 (CH₃, t Bu); 17.9 (CH₃, i Pr); 14.7 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 417.20 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 417.2046 [M+H]⁺ (calculada para C₁₉H₃₃N₂O₆S: 417.2042).

$[\alpha]_D^{25}$ = -66.0 ($c = 1.25$, CHCl₃).

Síntesis de (4*R*)-4-((3*S*)-1-hidroxi-3-((4*S*)-4-*iso*-propil-2-oxooxazolidin-3-il)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (183a) y de (4*R*)-4-((3*R*)-1-hidroxi-3-((4*S*)-4-*iso*-propil-2-oxooxazolidin-3-il)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (183b)



Se disolvieron conjuntamente el aldehído **180** (100 mg, 0.41 mmol) y el cloruro (S)-**115** (70 mg, 0.34 mmol) en THF (1 mL) y se añadieron gota a gota sobre una disolución de Sml_2 0.1 M (10 mL) enfriada a -78°C . Siguiendo un procedimiento similar al descrito para el compuesto **182a** se obtuvo una mezcla de los dos diastereoisómeros **183a** y **183b** que fueron separados mediante HPLC usando una columna Eclipse® XDB-C18 (150 x 4.6 mm, 5 μm), a una λ de 210 nm, con una fase móvil que consistió en un isocrático 60% CH_3CN en H_2O (v/v) y un flujo de 1.0 mL/min. Recogiéndose **183a** (t_R = 3.8 min, 40 mg, 30%) y **183b** (t_R = 4.1 min, 50 mg, 35%), ambos sólidos amorfos blancos en relación (1:1.1) con un rendimiento global del 65%.

52a. RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3), δ_H ppm: 4.58 (sa, $W_{1/2}$: 19 Hz, 1H, H-3); 4.47 (ddd, J = 7.6, 7.4, 3.4 Hz, 1H, H-3'); 4.42 (dd, J = 12.5, 6.5 Hz, 1H, H-4); 4.30 (dd, J = 7.6, 7.6 Hz, 1H, H-2'b); 4.23 (dd, J = 7.9, 3.4 Hz, 1H, H-2'a); 3.22 (m, 3H, H-2b/H-5); 2.86 (d, J = 12.3, 1H, H-2a); 2.40 (dhept, J = 6.9, 3.9 Hz, 1H, $i\text{Pr}$); 1.82 (s, 3H, CH_3); 1.80 (s, 3H, CH_3); 1.50 (s, 9H, $t\text{Bu}$); 0.93 (d, J = 6.9 Hz, 3H, $i\text{Pr}$); 0.91 (d, J = 6.8 Hz, 3H, $i\text{Pr}$).

RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), δ_C ppm: 171.7 (CO, C-1); 154.2 (CO, C-1'); 81.2 (C, Boc); 81.0 (C); 69.5 (CH, C-3); 67.2 (CH, C-4); 63.5 (CH_2 , C-2'); 58.6 (CH, C-3'); 40.5 (CH_2 , C-2); 29.8 (CH_2 , C-5); 28.4 (CH, $i\text{Pr}$); 28.3 (CH_3 , $t\text{Bu}$); 18.0 (CH_3 , $i\text{Pr}$); 14.7 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 439.19 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 439.1895 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaS}$: 439.1879).

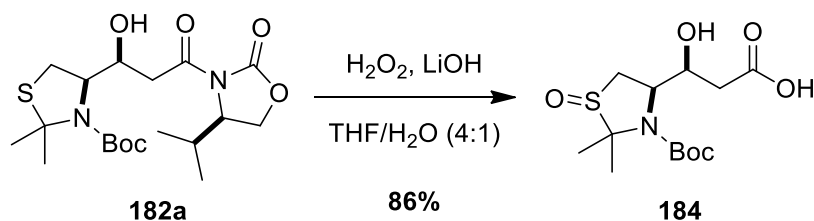
52b. RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3), δ_H ppm: 4.55 (sa, $W_{1/2}$: 15 Hz, 1H, H-3); 4.50 (ddd, J = 8.1, 7.2, 3.4 Hz, 1H, H-3'); 4.41 (ddd, J = 10.3, 7.1, 3.3 Hz, 1H, H-4); 4.28 (dd, J = 8.1, 8.1 Hz, 1H, H-2'b); 4.22 (dd, J = 8.1, 3.4 Hz, 1H, H-2'a); 3.26 (dd, J = 16.0, 3.3 Hz, 1H, H-5b); 3.21 (dd, J = 12.3, 6.4 Hz, 1H, H-2b); 3.17-3.09 (m, 1H, H-5a); 2.85 (d, J = 12.3 Hz, 1H, H-2a); 2.40 (dhept, J = 6.9, 3.9 Hz, 1H, $i\text{Pr}$); 1.81 (s, 3H, CH_3); 1.79 (s, 3H, CH_3); 1.49 (s, 9H, $t\text{Bu}$); 0.93 (d, J = 7.0 Hz, 3H, $i\text{Pr}$); 0.91 (d, J = 7.0 Hz, 3H, $i\text{Pr}$).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_c ppm: 171.5 (CO, C-1); 154.1 (CO, C-1'); 81.2 (C, Boc); 70.7 (CH, C-3); 68.5 (CH, C-4); 63.5 (CH₂, C-2'); 58.6 (CH, C-3'); 40.8 (CH₂, C-2); 30.3 (CH, ⁱPr); 29.7 (CH₂, C-5); 29.3 (CH₃, ^tBu); 18.0 (CH₃, ⁱPr); 14.8 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 439.19 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 439.1886 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₉H₃₂N₂O₆NaS: 439.1879).

Síntesis de ácido (3S)-3-((4R)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-1-oxidotiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoico (184)



Sobre una disolución de **182a** (85 mg, 0.21 mmol) en una mezcla 4:1 THF/H₂O (1.50 mL), enfriada a 0 °C se añadió, gota a gota, una disolución acuosa de H₂O₂ al 50% (0.06 mL, 0.76 mmol). Inmediatamente se añadió otra disolución 1.2 M de LiOH en H₂O (0.24 mL) y la disolución resultante se agitó 3 h a 0 °C. Después se añadió una disolución 1.46 M de Na₂SO₃ en H₂O (0.35 mL) y la mezcla se agitó toda la noche a temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se distribuyó entre CH₂Cl₂ (8 mL) y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ al 15% (8 mL), la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a vacío para dar el auxiliar quiral como un sólido cristalino. Por otro lado, la fase acuosa se acidificó a pH ~2 con HCl_(c) y se extrajo con EtOAc (2 x 8 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se llevaron a sequedad, recogiendo 58 mg (rendimiento del 86%) de ácido (3S)-3-((4R)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-1-oxidotiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoico (**184**) como un aceite incoloro.

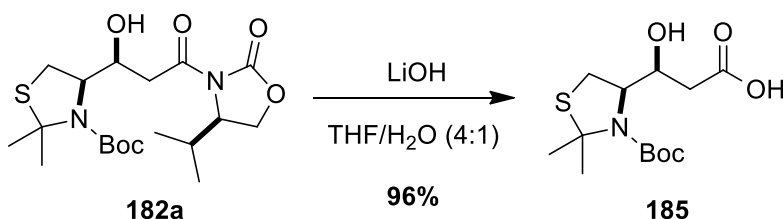
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.29 (sa, 2H, OH); 4.54 (ta, 1H, H-3); 4.42 (sa, 1H, H-4); 3.20 (dd, *J* = 12.6, 6.9 Hz, 1H, H-5b); 2.78-2.65 (m, 2H, H-5a/H-2b); 2.58 (dd, *J* = 15.8, 8.4 Hz, 1H, H-2a); 1.77 (s, 6H, 2 x CH₃); 1.48 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 171.6 (CO, C-1); 144.0 (CO, Boc); 98.5 (C); 82.2 (C, Boc); 70.6 (CH, C-3); 68.2 (CH, C-4); 60.7 (CH₂, C-5); 38.9 (CH₂, C-2); 28.7 (CH₃, ^{*t*}Bu); 28.2 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 322.13 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 322.1373 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₂₄NO₆S: 322.1324).

Síntesis de ácido (3S)-3-((4R)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoico (185)



Sobre una disolución de **182a** (0.20 g, 0.48 mmol) en una mezcla 4:1 THF/H₂O (5 mL) enfriada a 0 °C, se añadió una disolución acuosa 1.2 M de LiOH (0.75 mL). La disolución resultante se agitó 90 min a 0 °C. La mezcla se concentró a vacío y el residuo se distribuyó entre CH₂Cl₂ (10 mL) y una disolución acuosa de NaHCO₃ al 15% (10 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a vacío, recogiendo el auxiliar quiral como un sólido cristalino. Por otro lado, la fase acuosa se acidificó a pH ~2 con HCl_(c) y se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se llevaron a sequedad, recogiendo 0.14 g (rendimiento del 96%) de ácido (3S)-3-((4R)-3-(*tert*-butoxicarbonil)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoico (**185**) como un sólido amorfo blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_{H} ppm: 4.52 (ddd, $J = 9.8, 5.9, 3.0$ Hz, 1H, H-3); 4.42 (dd, $J = 6.9, 5.9$ Hz, 1H, H-4); 3.22 (dd, $J = 12.6, 6.9$ Hz, 1H, H-5b); 2.96 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H, H-5a); 2.68 (dd, $J = 15.6, 3.0$ Hz, 1H, H-2b); 2.49 (dd, $J = 15.6, 9.8$ Hz, 1H, H-2a); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.77 (s, 3H, CH₃); 1.51 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

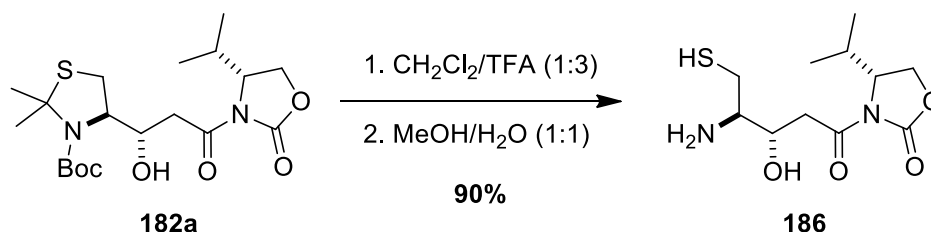
RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_{C} ppm: 175.8 (CO, C-1); 155.0 (CO, Boc); 82.0 (C, Boc); 72.2 (C); 69.6 (CH, C-3); 68.6 (CH, C-4); 39.2 (CH₂, C-2); 28.9 (CH₂, C-5); 28.7 (CH₃, ^{*t*}Bu); 28.2 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 306.14 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 306.1373 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₂₄NO₅S: 306.1369).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -15.4 ($c = 0.63$, CH₃OH).

Síntesis de (4*R*)-3-((3*S*,4*R*)-4-amino-3-hidroxi-5-mercaptopentanoil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona (186**)**



Sobre una disolución de **182a** (95 mg, 0.23 mmol) en una mezcla 1:3 CH₂Cl₂/TFA (6 mL) se agitó durante dos días a temperatura ambiente. A continuación se concentró bajo presión reducida y el acetónido resultante se redisolvió en una mezcla 1:1 MeOH/H₂O (10 mL) y se eliminaron los disolventes a presión reducida. El crudo resultante se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® HS F5 (25 cm x 10 mm, 5 μm) con una fase móvil consistente en un isocrático 30% CH₃CN en H₂O (v/v, conteniendo cada uno 0.1% TFA) con un flujo de 1.5 mL/min (*t_R* = 20.1 min, λ = 254 nm), recogiendo 78 mg (rendimiento del 90%) de (4*R*)-3-((3*S*,4*R*)-4-amino-3-hidroxi-5-mercaptopentanoil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona (**186**) como un sólido amorfo blanco.

RMN-¹H (300 MHz, D₂O), δ_H ppm: 4.52-4.52 (m, 1H, H-3); 4.48-4.41 (m, 3H, H-2'/H-3'); 3.49-3.36 (m, 2H, H-4/H-5b); 3.12 (dd, *J* = 16.2, 9.3 Hz, 1H, H-5a); 3.02 (dd, *J* = 14.9, 5.1 Hz, 1H, H-2b); 2.83 (dd, *J* = 14.9, 7.2 Hz, 1H, H-2a); 2.33-2.22 (m, 1H, ^{*i*}Pr); 0.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, ^{*i*}Pr); 0.88 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, ^{*i*}Pr).

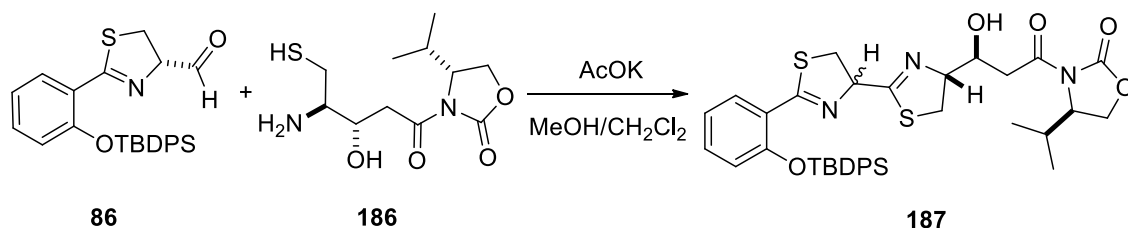
RMN-¹³C (75 MHz, D₂O), δ_C ppm: 171.4 (CO, C-1), 155.8 (CO, C-1'), 65.7 (CH, C-3), 64.9 (CH₂, C-2'), 58.9 (CH, C-3'), 57.3 (CH, C-4), 39.6 (CH₂, C-2), 28.5 (CH, ^{*i*}Pr), 23.4 (CH₂, C-5), 16.8 (CH₃, Me), 14.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 277.11 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 277.1207 [M+H]⁺ (calculada para C₁₁H₂₁N₂O₄S: 277.1216).

[α]_D²⁵ = -45.6 (*c* = 0.9, CH₃OH).

Síntesis de (4*R*)-3-((3*S*)-3-((4*R*)-2'-(2-((*tert*-butildifenilsilil)oxi)fenil)-4,4',5,5'-tetrahidro-[2,4'-bitiazol]-4-il)-3-hidroxiopropanoil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona (187)

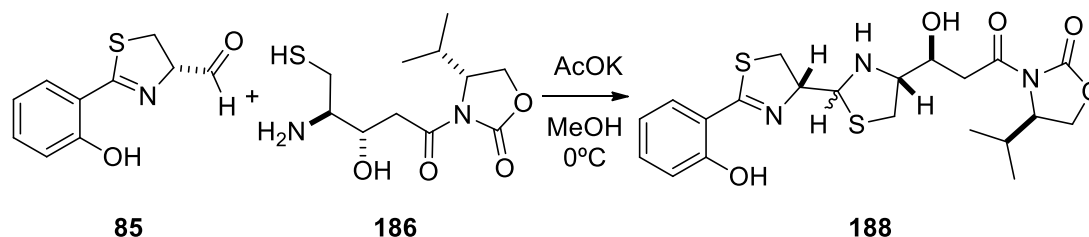


A una disolución del aminotiol **186** (29 mg, 0.10 mmol) y acetato potásico (69 mg, 0.71 mmol) en metanol (1 mL) se le añadió una disolución del aldehído **86** recién sintetizado (30 mg, 0.07 mmol) en CH₂Cl₂ (1 mL). Después de agitarse 24 h a temperatura ambiente, se añadió una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (10 mL) y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar la mezcla de diastereoisómeros **187** como una espuma amarilla.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 702.26 [M+H]⁺; 463.13 [M-C₁₆H₁₉Si]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 464.1296 [M-C₁₆H₁₉Si]⁺ (calculada para C₂₁H₂₆N₃O₅S₂: 464.1308).

Síntesis de (4*R*)-3-((3*S*)-3-hidroxi-3-((4*R*)-2-((*R*)-2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-il)tiiazolidin-4-il)propanoil)-4-*iso*-propiloxazolidin-2-ona (188**)**



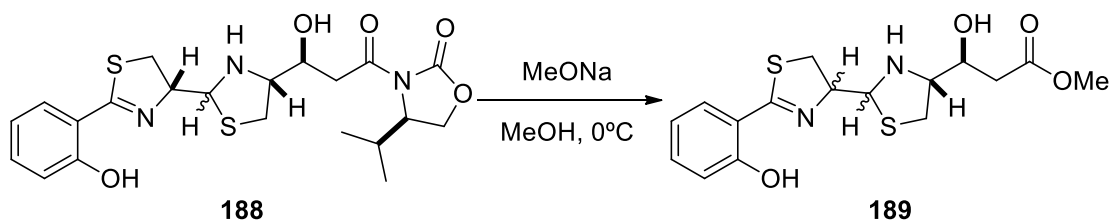
Sobre una disolución de **186** (66 mg, 0.24 mmol) y acetato potásico (24 mg, 0.24 mmol) en metanol (1 mL) enfriada a 0 °C, se añadió una disolución del aldehído **85** recién sintetizado (50 mg, 0.24 mmol) en metanol (1 mL). Después de agitarse 4 h a 0 °C, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo se distribuyó entre una disolución acuosa saturada de NaCl (10 mL) y CH₂Cl₂ (10 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 × 15 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar una mezcla de los dos diastereoisómeros **188a** (9*S*, 10*R*, 12*R*, 13*S*) y **188b** (9*S*, 10*S*, 12*R*, 13*S*) en relación (2:3) que se usaron sin más purificación en el siguiente paso sintético.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.42 (2H), 7.35 (2H), 7.00 (2H), 6.89 (2H), 5.00 (2H), 4.92 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.77 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.46 (2H), 4.35-4.19 (m, 8H), 3.54 (dd, *J* = 11.2, 8.8 Hz, 1H), 3.46 (dd, *J* = 10.8, 8.6 Hz, 1H), 3.41-3.24 (m, 4H), 3.06 – 2.91 (m, 2H), 2.42-2.33 (m, 2H), 0.96-0.88 (m, 12H).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 466.14 [M+H]⁺; 488.13 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 488.1292 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₁H₂₇N₃O₅NaS₂: 488.1289).

Síntesis de (3S)-3-hidroxi-3-((4R)-2-(2-(2-hidroxifenil)-4,5-dihidrotiazol-4-il)tiazolidin-4-il)propanoato de metilo (189)

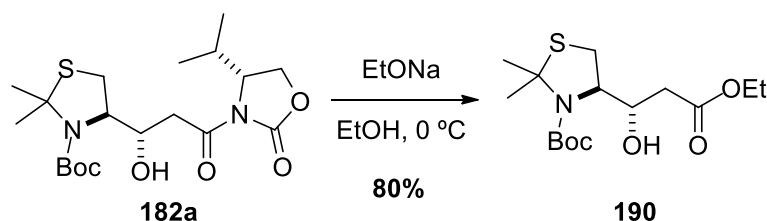


Una disolución de metóxido sódico (4 mg, 0.07 mmol) en metanol (0.5 mL) se añadió a otra disolución de la mezcla de diastereoisómeros **188** (30 mg, 0.06 mmol) en metanol (1 mL) enfriada a 0 °C, la mezcla de reacción resultante se agitó 2 h a 0 °C y después se paró con una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (5 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida para dar la mezcla de cuatro diastereoisómeros **189** (9.52 mg, rendimiento del 65%) como una espuma amarilla.

(+)-LR-ESIMS m/z : 369.09 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 369.0943 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$: 369.0937).

Síntesis de (4R)-4-((3S)-3-etoxi-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (190)



Sobre una disolución de **182a** (0.16 g, 0.38 mmol) en etanol (5 mL) enfriada a 0 °C, se adicionó gota a gota otra disolución de etóxido sódico (55 mg, 0.77 mmol) en etanol (2 mL), la mezcla de reacción resultante se agitó 15 min a 0 °C y después se paró con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (15 mL) y se extrajo con Et₂O (3 x 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida para dar un sólido blanco que se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/EtOAc (2:1)], recogiénose 0.11 g (rendimiento del 80%) de (4R)-4-((3S)-3-etoxi-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (**190**) como un sólido cristalino blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.52 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-3); 4.37 (ddd, *J* = 8.5, 6.6, 3.8 Hz, 1H, H-4); 4.18 (c, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃); 3.20 (dd, *J* = 12.5, 6.6 Hz, 1H, H-5b); 2.76 (da, *J* = 12.5 Hz, 1H, H-5a); 2.67-2.46 (m, 2H, H-2); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.78 (s, 3H, CH₃); 1.49 (s, 9H, ^tBu); 1.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, OCH₂CH₃).

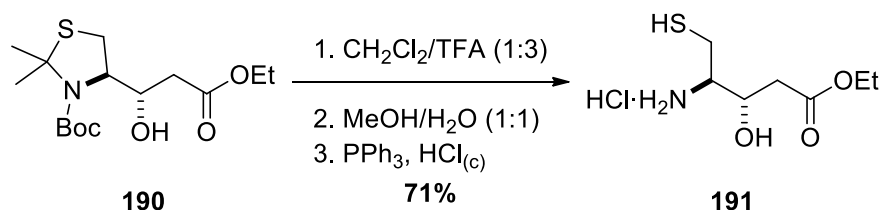
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 172.2 (CO, C-1); 154.2 (CO, Boc); 81.2 (C, Boc); 70.4 (C); 66.8 (CH, C-4); 65.9 (CH, C-3); 60.7 (CH₂, OEt); 37.8 (CH₂, C-2); 28.9 (CH₂, C-5); 27.5 (CH₃, ^tBu); 15.2 (CH₃, Me); 14.2 (CH₃, OEt).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 356.15 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 356.1511 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₅H₂₇NO₅NaS: 356.1502).

[α]_D²³ = -35.6 (c = 0.40, CHCl₃).

Síntesis de hidrocloreto de (3*S*,4*R*)-4-amino-3-hidroxi-5-mercaptopentanoato de etilo (**191**)



Una disolución de **190** (0.20 g, 0.61 mmol) en una mezcla 1:3 CH₂Cl₂/TFA (12 mL), se agitó durante dos días a temperatura ambiente. A continuación, se eliminó el disolvente bajo presión reducida y el acetónido resultante se redisolvió en una mezcla 1:1 MeOH/H₂O (15 mL). Los disolventes fueron eliminados a presión reducida (este proceso se repitió tres veces) para dar el correspondiente dímero. Para romper el puente disulfuro formado se disolvió el dímero en una mezcla 1:3 dioxano/H₂O (2.40 mL), entonces se añadió PPh₃ (0.16 g, 0.61 mmol) y finalmente HCl_(c) (0.20 mL); después de 4 h a 40 °C, se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se redisolvió en H₂O (30 mL) y se lavó con hexano (30 mL). La fase acuosa se concentró bajo presión reducida. El crudo resultante se purificó mediante HPLC usando una columna Discovery® HS F5 (25 cm x 10 mm, 5 μm), con una fase móvil consistente en un isocrático 25% CH₃CN en H₂O (v/v, conteniendo cada uno 0.1% TFA) y con un flujo de 1.5 mL/min (*t_R* = 14.1 min, λ = 254 nm), recogiendo 97 mg (rendimiento del 71%) de hidrocloreto (3*S*,4*R*)-4-amino-3-hidroxi-5-mercaptopentanoato de etilo (**191**) como un sólido grisáceo.

RMN-¹H (300 MHz, D₂O), δ_H ppm: 4.30 (dt, *J* = 7.7, 5.1 Hz, 1H, H-3); 4.18 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂CH₃); 3.35-3.25 (m, 1H, H-4); 2.92 (dd, *J* = 14.5, 5.1 Hz, 1H, H-2b); 2.83-2.55 (m, 3H, H-2a/H-5); 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH₂CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 171.0 (CO, C-1); 65.5 (CH, C-3), 60.6 (CH₂, OEt); 57.5 (CH, C-4), 38.6 (CH₂, C-2); 23.6 (CH₂, C-5); 13.1 (CH₃, OEt).

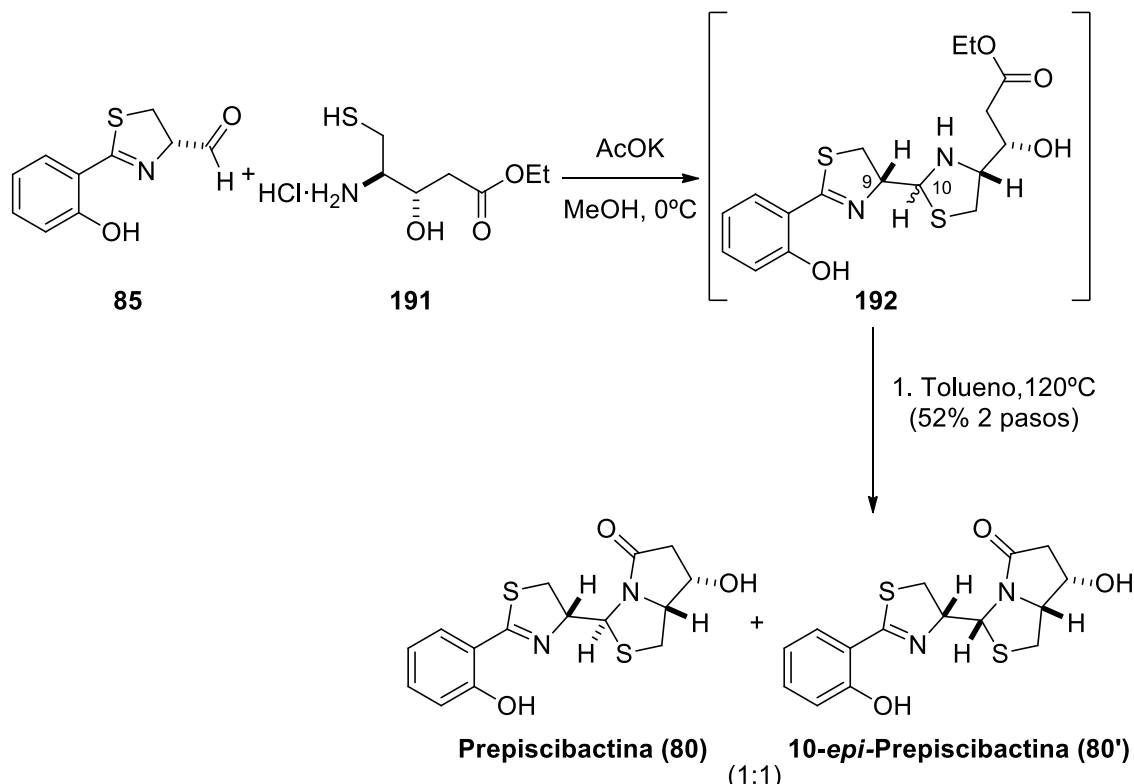
(+)-LR-ESIMS *m/z*: 194.08 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 194.0849 [M+H]⁺ (calculada para C₇H₁₆NO₃S: 194.0845).

[α]_D²⁶ = -19.6 (c = 0.65, CH₃OH).

Síntesis de prepiscibactina (**80**) y 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**)

Procedimiento A:

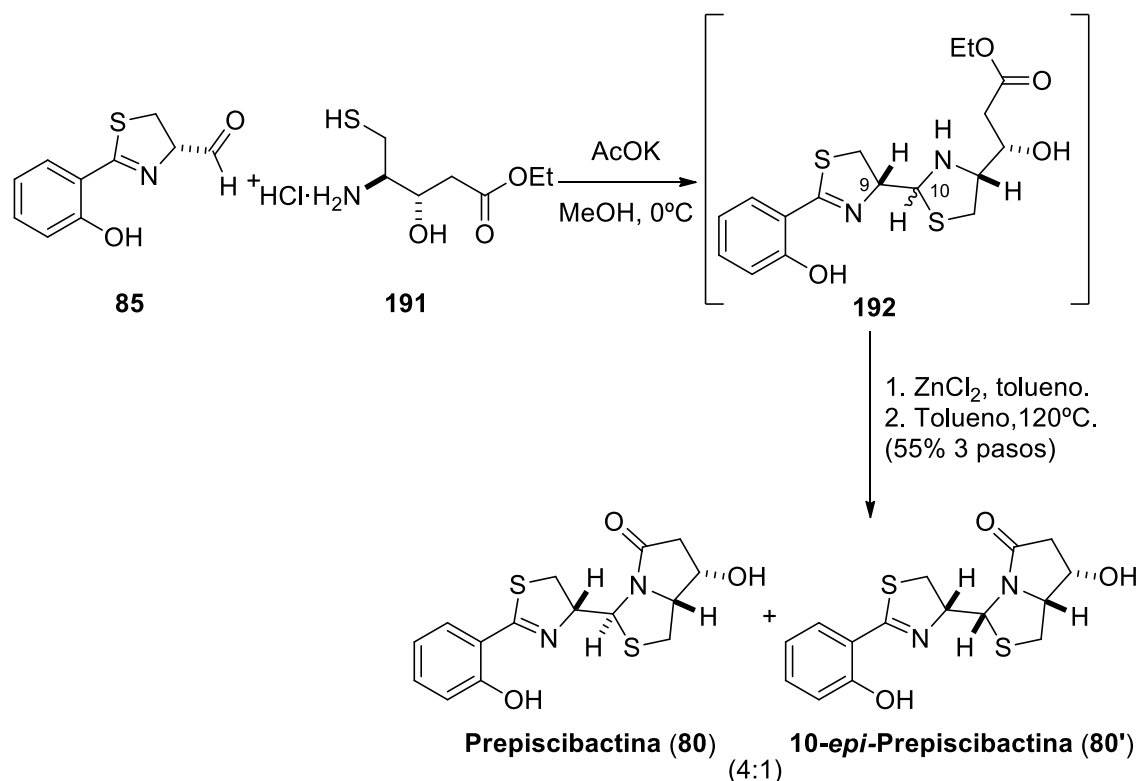


Sobre una disolución del hidrocloreuro **191** (25 mg, 0.12 mmol) y acetato potásico (12 mg, 0.12 mmol) en metanol (1 mL) enfriada a 0 °C, se añadió otra disolución del aldehído **85** (25 mg, 0.12 mmol) (recién sintetizado) en metanol (1 mL). Después de agitarse 2 h a 0 °C, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo se distribuyó entre una disolución acuosa saturada de NaCl (5 mL) y CH₂Cl₂ (5 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. La tiazolidina, obtenida como una espuma amarilla-marrón, es muy sensible por lo que se usó inmediatamente en el siguiente paso sintético sin más purificación.

Se agitó toda la noche a 120 °C una disolución de la tiazolidina **192** (44 mg, 0.12 mmol) en tolueno (3 mL). Después de este tiempo se dejó alcanzar temperatura ambiente y se concentró a vacío para dar una mezcla de los dos diastereoisómeros **80** (9*R*, 10*S*, 12*R*, 13*S*) y **80'** (9*R*, 10*R*, 12*R*, 13*S*) en relación (1:1) que fueron separados por HPLC usando una columna Discovery® HS F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm), con una fase móvil que consistió en la siguiente secuencia: de 0 a 10 min, gradiente de 10% a 30% CH₃CN en H₂O; de 10 a 13 min isocrático 30% CH₃CN y 70% H₂O; de 13 a 15 min gradiente de 30% a 100% CH₃CN en H₂O y con un flujo constante de 1 mL/min (los porcentajes son en v/v, conteniendo cada uno 0.1% TFA). Las fracciones que contenían 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**, *t_R* = 9.6 min, λ = 210, 254, 280 y 320 nm, 10.5 mg,

rendimiento del 26%) y prepiscibactina (**80**, $t_R = 10.6$ min, $\lambda = 210, 254, 280$ y 320 nm, 10.5 mg, rendimiento del 26%) fueron reunidas de forma separada y secadas a alto vacío. Total 21 mg, rendimiento global: 52%).

Procedimiento B:



Se repitió el mismo procedimiento que para la obtención de la tiazolidina **192** indicado anteriormente.

Sobre una disolución de la tiazolidina **192** (46 mg, 0.12 mmol) en tolueno (10 mL), se añadió cloruro de zinc (40 mg, 0.31 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y toda la noche a 120°C . Después de este tiempo se dejó alcanzar temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc, se lavó con una disolución acuosa de KHSO₄ al 5% en p/v y con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a vacío para dar una mezcla de los dos diastereoisómeros **80** (9*R*, 10*S*, 12*R*, 13*S*) y **80'** (9*R*, 10*R*, 12*R*, 13*S*) en relación (4:1). Los dos diastereoisómeros fueron separados por HPLC usando una columna Discovery® HS F5 (100 x 4.6 mm, 5 μm), con una fase móvil que consistió en la siguiente secuencia: de 0 a 10 min, gradiente de 10% a 30% CH₃CN en H₂O; de 10 a 13 min isocrático 30% CH₃CN y 70% H₂O; de 13 a 15 min gradiente de 30% a 100% CH₃CN en H₂O y con un flujo constante de 1 mL/min (los porcentajes son en v/v, conteniendo cada uno 0.1% TFA). Las fracciones que contenían 10-*epi*-prepiscibactina (**80'**, $t_R = 9.3$ min, $\lambda = 210, 254, 280$

y 320 nm 4.20 mg, rendimiento del 11%) y prepiscibactina (**80**, $t_R = 10.3$ min, $\lambda = 210$, 254, 280 y 320 nm, 17.50 mg, rendimiento del 44%) fueron reunidas de forma separada y secadas a alto vacío. Total 21.70 mg, rendimiento global: 55%).

Prepiscibactina (80):

RMN-¹H (500 MHz, CH₃OD), δ_H ppm: 7.44 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1.7 Hz, 1H, H-5); 7.39 (ddd, $J = 8.4$ Hz, 7.6 Hz, 1.7 Hz, 1H, H-3); 6.95 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1.0 Hz, 1H, H-2); 6.91 (ddd, $J = 7.8$ Hz, 7.6 Hz, 1.0 Hz, 1H, H-4); 5.30 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-10); 4.98 (ddd, $J = 8.9$, 7.3 Hz, 7.1 Hz, 1H, H-9); 4.53 (ddd, $J = 10.6$, 7.1, 5.4 Hz, 1H, H-13); 4.56 (ddd, $J = 6.0$, 5.4, 2.3 Hz, 1H, H-12); 3.52 (dd, $J = 11.5$, 8.9 Hz, 1H, H-8b); 3.37 (dd, $J = 11.5$, 7.3 Hz, 1H, H-8a); 3.27 (dd, $J = 10.7$, 8.4 Hz, 1H, H-11b); 3.04 (dd, $J = 17.2$, 6.0 Hz, 1H, H-14b); 2.99 (dd, $J = 10.7$, 6.5 Hz, 1H, H-11a); 2.42 (dd, $J = 17.2$, 2.2 Hz, 1H H-14a).

RMN-¹³C (125 MHz, CH₃OD), δ_C ppm: 175.5 (CO, C-15); 175.2 (C, C-7); 168.2 (C, C-1); 134.5 (CH, C-3); 131.7 (CH, C-5); 120.2 (CH, C-4); 117.9 (CH, C-2); 117.3 (C, C-6); 82.5 (CH, C-9); 70.4 (CH, C-12); 66.7 (CH, C-13); 63.1 (CH, C-10); 43.9 (CH₂, C-14); 34.7 (CH₂, C-8); 30.4 (CH₂, C-11).

(+)-LR-ESIMS m/z : 337.07 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 337.0664 [M+H]⁺ (calculada para C₁₅H₁₇N₂O₃S₂: 337.0675).

$[\alpha]_D^{26}$ = -35.3 ($c = 0.12$, CH₃OH).

10-*epi*-Prepiscibactina (80'):

RMN-¹H (500 MHz, CH₃OD), δ_H ppm: 7.49 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1.7 Hz, 1H, H-5); 7.44 (ddd, $J = 8.4$ Hz, 7.6 Hz, 1.7 Hz, 1H, H-3); 6.98 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1.1 Hz, 1H, H-2); 6.94 (ddd, $J = 7.8$ Hz, 7.6 Hz, 1.1 Hz, 1H, H-4); 5.48 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H, H-10); 5.01 (ddd, $J = 8.9$, 8.2 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-9); 4.43 (ddd, $J = 5.9$, 5.0, 1.8 Hz, 1H, H-13); 4.38 (ddd, $J = 7.8$, 7.4, 5.0 Hz, 1H, H-12); 3.61 (dd, $J = 11.2$, 8.9 Hz, 1H, H-8b); 3.51 (dd, $J = 11.2$, 8.2 Hz, 1H, H-8a); 3.35 (dd, $J = 10.4$, 7.8 Hz, 1H, H-11b); 3.11 (dd, $J = 10.4$, 7.4 Hz, 1H, H-11a); 2.97 (dd, $J = 17.1$, 5.9 Hz, 1H, H-14b); 2.37 (dd, $J = 17.1$, 1.8 Hz, 1H, H-14a).

RMN-¹³C (125 MHz, CH₃OD), δ_C ppm: 177.4 (CO, C-15); 175.4 (C, C-7); 160.3 (C, C-1); 135.6 (CH, C-3); 131.9 (CH, C-5); 120.5 (CH, C-4); 118.1 (CH, C-2); 116.6 (C, C-6); 80.8 (CH, C-9); 70.6 (CH, C-12); 67.2 (CH, C-13); 62.8 (CH, C-10); 44.3 (CH₂, C-14); 34.0 (CH₂, C-8); 30.2 (CH₂, C-11).

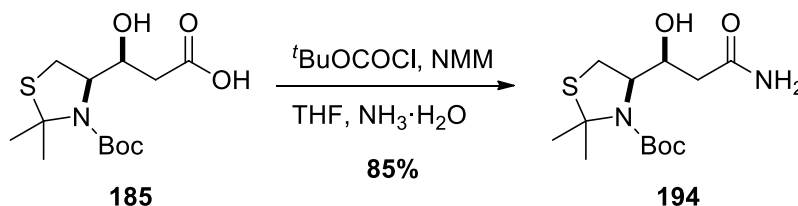
(+)-LR-ESIMS m/z : 337.07 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 337.0677 [M+H]⁺ (calculada para C₁₅H₁₇N₂O₃S₂: 337.0675).

$[\alpha]_D^{26}$ = -25.3 ($c = 0.12$, CH₃OH).

3.2. Síntesis de los compuestos para la aproximación a piscibactina (79)

Síntesis de (4R)-4-((1S)-3-amino-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (**194**)



Sobre una disolución del ácido **185** (115 mg, 0.37 mmol) en THF (4 mL) enfriada a -20 °C, se añadió NMM (0.05 mL, 0.44 mmol) y $t\text{BuOCCl}$ (0.05 mL, 0.41 mmol). La mezcla se agitó 30 min a -20 °C y después se añadió una disolución acuosa de NH_3 al 30% (0.21 mL, 0.41 mmol), se llevó a -10 °C y se agitó 2 h a esa temperatura. Después de ese tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se redisolvió en EtOAc (30 mL) y se realizaron sucesivos lavados con una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (20 mL), con H_2O (20 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro y se evaporó el disolvente para obtener 91 mg (rendimiento del 85%) de (4R)-4-((1S)-3-amino-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (**194**) como un sólido blanco que se usó en el siguiente paso sintético sin más purificación.

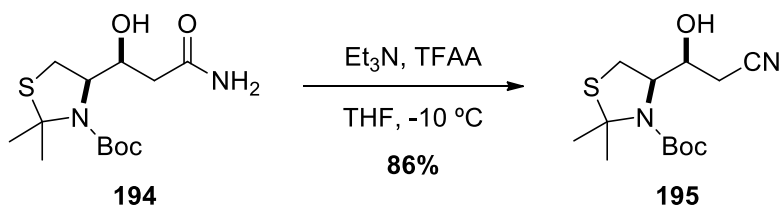
RMN- ^1H (300 MHz, CD_3OD), δ_{H} ppm: 4.49-4.36 (m, 2H, H-3/H-4); 3.23 (dd, $J = 12.5$, 7.2 Hz, 1H, H-5b); 2.96 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, H-5a); 2.52-2.45 (m, 2H, H-2a/b); 1.82 (s, 3H, CH_3); 1.79 (s, 3H, CH_3); 1.51 (s, 9H, $t\text{Bu}$).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CD_3OD), δ_{C} ppm: 177.3 (CO, C-1); 155.1 (CO, Boc); 82.0 (C, Boc); 70.3 (CH, C-4); 68.7 (CH, C-3); 40.1 (CH_2 , C-2); 28.7 (CH_3 , $t\text{Bu}$); 27.3 (CH_3 , Me); 28.5 (CH_2 , C-5).

(+)-LR-ESIMS m/z : 305.15 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 305.1531 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 305.1529).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -40.7 ($c = 0.32$, CHCl_3).

Síntesis de (4R)-4-((1S)-2-ciano-1-hidroxietil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (195)

Sobre una disolución de la amida **194** (75 mg, 0.24 mmol) en THF (2.50 mL) enfriada a -10 °C, se añadió Et₃N (0.10 mL, 0.73 mmol) y anhídrido trifluoroacético (0.05 mL, 0.36 mmol). La mezcla se agitó 2 h a -10 °C. Después de ese tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se redisolvió en EtOAc (30 mL) y se realizaron sucesivos lavados con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (20 mL), con H₂O (20 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl. La fase orgánica se secó con MgSO₄ anhidro y se evaporó el disolvente para obtener un crudo que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:1)]. Se obtuvieron 61 mg (rendimiento del 86%) de (4R)-4-((1S)-2-ciano-1-hidroxietil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (**195**) como un sólido cristalino blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.54 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H, H-3); 4.28-4.22 (m, 1H, H-4); 3.24 (dd, *J* = 12.8, 6.4 Hz, 1H, H-5b); 2.72 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H, H-5a); 2.69 (dd, *J* = 16.8, 4.3 Hz, 1H, H-2b); 2.57 (dd, *J* = 16.8, 6.5 Hz, 1H, H-2a); 1.77 (s, 6H, 2 x CH₃); 1.49 (s, 9H, *t*Bu).

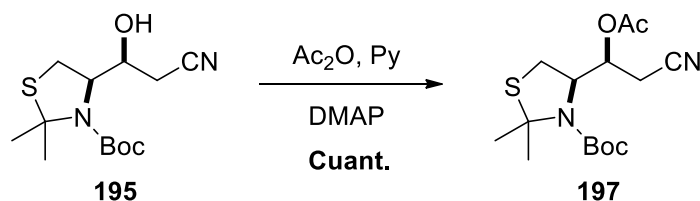
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 154.4 (CO, Boc); 117.5 (C, C-1); 82.2 (C, Boc); 70.3 (CH, C-4); 68.3 (CH, C-4); 29.5 (CH₂, C-5); 28.9 (CH₃, Me); 28.5 (CH₃, *t*Bu); 24.3 (CH₂, C-2).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 287.14 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 287.1436 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₂₃N₂O₃S: 287.1423).

[α]_D²⁵ = -20.8 (c = 0.15, CHCl₃).

Síntesis de (4R)-4-((1S)-1-acetoxi-2-cianoetil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (197)



Sobre una disolución del nitrilo **195** (28 mg, 0.10 mmol) en anhídrido acético (1.50 mL) y piridina (0.65 mL) se añadió DMAP en cantidad catalítica (2 mg, 0.01 mmol). Después de toda la noche agitándose a temperatura ambiente, la disolución se concentró a presión reducida para obtener un crudo que se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/Et₂O (1:2)]. Se obtuvieron 38 mg (rendimiento cuantitativo) de (4R)-4-((1S)-1-acetoxi-2-cianoetil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (**197**) como un sólido cristalino blanco.

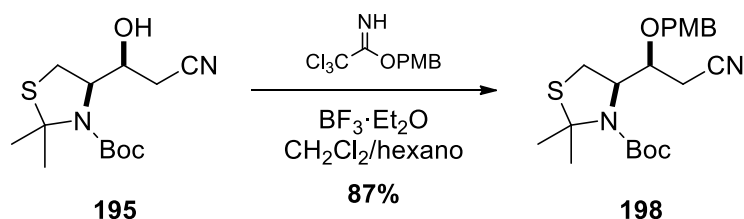
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.51 (c, *J* = 5.9 Hz, 1H, H-3); 4.62-4.52 (m, 1H, H-4); 3.22 (dd, *J* = 12.8, 6.9 Hz, 1H, H-5b); 2.90 (dd, *J* = 12.9, 0.8 Hz, 1H, H-5a); 2.84 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, H-2a/b); 2.12 (s, 3H, CH₃); 1.77 (s, 3H, CH₃); 1.78 (s, 3H, CH₃); 1.49 (s, 9H, ^tBu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 169.6 (CO); 152.7 (CO); 116.8 (C, C-1); 81.6 (C, Boc); 71.6 (CH, C-4); 63.9 (CH, C-3); 28.3 (CH₂, C-5); 28.9 (CH₃, Me); 28.5 (CH₃, ^tBu); 21.0 (CH₃, Ac); 20.2 (CH₂, C-2).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 329.15 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 329.1540 [M+H]⁺ (calculada para C₁₅H₂₅N₂O₄S: 329.1529).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*S*)-2-ciano-1-((4-metoxibencil)oxi)etil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (198**)**



Sobre una disolución del nitrilo **195** (54 mg, 0.18 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL) se añadió otra disolución de 2,2,2-tricloroacetimidato de *p*-metoxibencilo (106 mg, 0.38 mmol) en hexano (4 mL) y se enfrió a $-5\text{ }^\circ\text{C}$. Una vez fría se añadió $\text{Et}_2\text{O} \cdot \text{BF}_3$ (2 μL , 0.02 mmol) y se agitó 10 min a $-5\text{ }^\circ\text{C}$ y 2 h a temperatura ambiente. Después de este tiempo se filtró sobre celita y el filtrado se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 . La fase acuosa se secó sobre MgSO_4 anhidro y se concentró a presión reducida para obtener un crudo que se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/ Et_2O (2:1)]. Se obtuvieron 63 mg (rendimiento del 87%) de (4*R*)-4-((1*S*)-2-ciano-1-((4-metoxibencil)oxi)etil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo **198** como un sólido cristalino blanco.

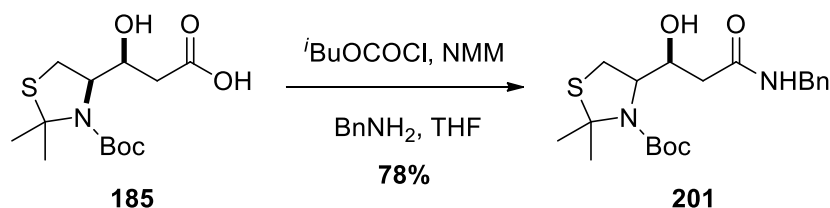
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.34-7.17 (m, 2H, PMB); 6.89-6.76 (m, 2H, PMB); 4.20 (c, $J = 5.4\text{ Hz}$, 1H, H-4); 3.91-3.81 (m, 1H, H-3); 3.80 (s, 3H, OCH_3); 3.71 (s, 2H, PMB); 3.06-2.95 (m, 1H, H-5b); 2.68-2.58 (m, 3H, H-5a/H-2); 1.64-1.38 (m, 15H, 2 x $^t\text{Bu}/\text{CH}_3$).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 159.0 (CO, Boc); 130.2 (CH, PMB); 129.9 (CH, PMB); 116.7 (C, C-1); 114.0 (CH, PMB); 81.0 (C, Boc); 74.9 (CH, C-4); 61.0 (CH, C-3); 55.4 (CH_3 , OMe); 28.8 (CH_2 , C-5); 28.9 (CH_3 , Me); 28.5 (CH_3 , ^tBu); 24.2 (CH_2 , C-2).

(+)-LR-ESIMS m/z : 407.20 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 407.1998 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 407.1999).

Síntesis de (4R)-4-((1S)-3-(bencilamino)-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (201**)**



Sobre una disolución del ácido **185** (75 mg, 0.22 mmol) en THF (4 mL), enfriada a -20 °C, se añadió NMM (0.03 mL, 0.28 mmol) y $t\text{BuOCOCl}$ (0.03 mL, 0.24 mmol). La mezcla se agitó 30 min a -20 °C y después se añadió bencilamina (75 mg, 0.58 mmol), se llevó a -10 °C y se agitó 2 h a esa temperatura. Después de ese tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo se redisolvió en EtOAc (30 mL) y se realizaron sucesivos lavados con una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (20 mL), con H_2O (20 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl , la fase orgánica se secó con MgSO_4 anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (2:1 a 1:1)] para dar 68 mg (rendimiento del 78 %) de (4R)-4-((1S)-3-(bencilamino)-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (**201**) como un sólido blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.36-7.23 (m, 5H, Bn); 4.47-4.27 (m, 3H, H-3/Bn); 4.34-4.26 (m, 1H, H-4); 3.23 (dd, $J = 12.5, 7.2$ Hz, 1H, H-5b); 2.95 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, H-5a); 2.52-2.45 (m, 2H, H-2a/b); 1.72 (s, 6H, 2 x CH_3); 1.51 (s, 9H, $t\text{Bu}$).

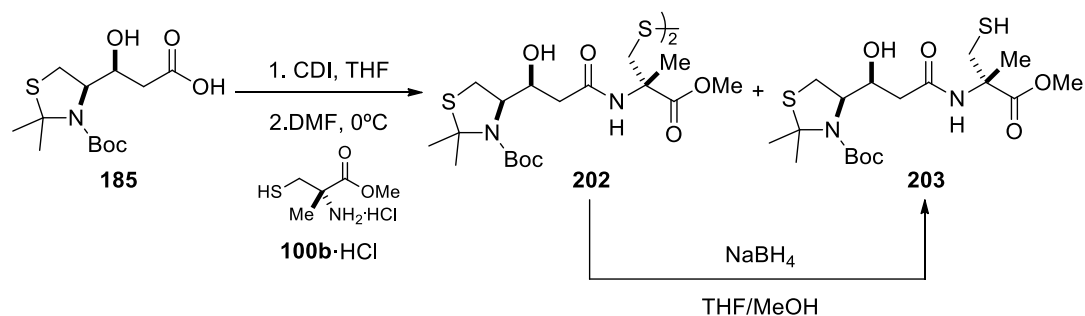
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 171.2 (C, C-1); 138.2 (C, Bn); 128.6 (CH, Bn); 128.6 (CH, Bn); 127.7 (CH, Bn); 127.4 (CH, Bn); 127.4 (CH, Bn); 81.7 (C, Boc); 71.5 (CH, C-3); 67.7 (CH, C-4); 44.5 (CH_2 , C-2); 43.4 (CH_2 , Bn); 29.7 (CH_2 , C-5); 28.4 (CH_3 , Me); 28.9 (CH_3 , $t\text{Bu}$).

(+)-LR-ESIMS m/z : 395.20 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 395.1982 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 395.1999).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -32.8 ($c = 0.21$, CHCl_3).

Síntesis de (4R)-4-((2S)-1-hidroxi-3-(((3S)-3-mercapto-1-metoxi-2-metil-1-oxopropan-2-il)amino)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (203**)**



Sobre una disolución del ácido **185** (0.20 g, 0.64 mmol) en THF (7 mL) enfriada a 0 °C, se añadió el agente acoplante CDI (0.12 g, 0.72 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 90 min se volvió a enfriar a 0 °C y se añadió gota a gota una disolución del éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (0.17 g, 0.96 mmol) en DMF (7 mL) y la mezcla resultante se agitó 3 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se concentró a vacío y el crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:1)] para dar 80 mg (rendimiento del 29%) del dímero **202** y 120 mg (rendimiento del 43%) del monómero **203**, aislados ambos como sólidos amorfos blancos.

Sobre una disolución del dímero **202** (80 mg, 0.09 mmol) en THF (2.50 mL) enfriada a 0 °C, se añadió gota a gota otra disolución de NaBH₄ (83 mg, 2.25 mmol) en MeOH (2.50 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después se volvió a enfriar a 0 °C y la reacción se paró con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (3 mL). Se diluyó con EtOAc (20 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 69 mg (rendimiento cuantitativo) de **203**. El rendimiento para los dos pasos fue del 72%.

Dímero 202.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.53-4.45 (m, 1H, H-3); 4.35-4.29 (m, 1H, H-4); 3.76 (s, 3H, OCH₃); 3.56 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H, H-3'b); 3.40 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H, H-3'a); 3.18 (dd, *J* = 12.6, 6.4 Hz, 1H, H-5b); 2.84 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H, H-5a); 2.49 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, H-2); 1.77 (s, 3H, CH₃); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.59 (s, 3H, CH₃); 1.50 (s, 9H, ^tBu).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 173.4 (CO, C-1'); 171.3 (CO, C-1); 159.9 (CO, Boc); 81.4 (C, Boc); 70.6 (CH, C-4); 68.6 (CH, C-3); 60.3 (C); 58.8 (C, C-2'); 53.1 (CH₃, OMe); 45.5 (CH₂, C-3'); 41.6 (CH₂, C-2); 28.9 (CH₂, C-5); 28.5 (CH₃, ^tBoc); 22.8 (CH₃).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 893.32 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 893.3171 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₈H₃₂N₂O₆NaS₂: 893.3139).

Monómero 203.

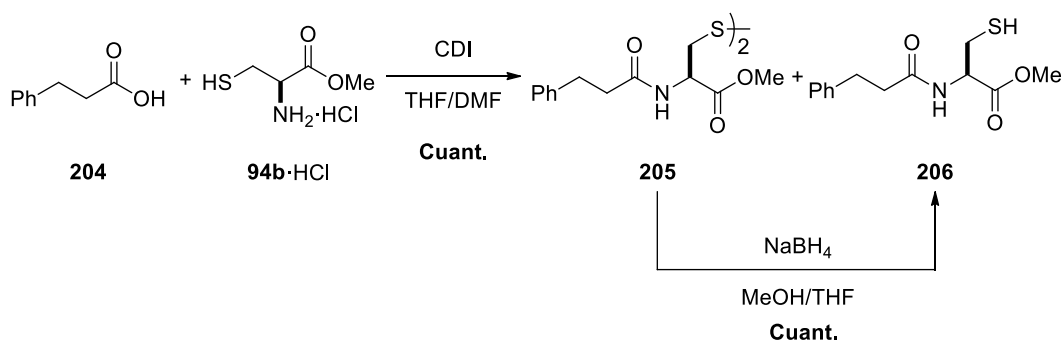
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.55-4.47 (m, 1H, H-3); 4.33-4.25 (m, 1H, H-4); 3.78 (s, 3H, OCH₃); 3.37 (dd, J = 14.0, 9.1 Hz, 1H, H-3'b); 3.19 (dd, J = 12.6, 5.7 Hz, 1H, H-5b); 3.12 (dd, J = 14.0, 9.1 Hz, 1H, H-3'a); 2.79 (d, J = 12.6 Hz, 1H, H-5a); 2.53-2.38 (m, 2H, H-2a/b); 1.77 (s, 3H, CH₃); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.61 (s, 3H, CH₃); 1.50 (s, 9H, ^tBu); 1.44 (t, J = 9.1 Hz, 1H, SH).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 173.3 (CO, C-1'); 171.5 (CO, C-1); 81.3 (C, Boc); 70.7 (CH, C-4); 67.9 (CH, C-3); 61.5 (C); 59.9 (C, C-2'); 53.1 (CH₃, OMe); 38.2 (CH₂, C-2); 30.3 (CH₂, C-3'); 29.7 (CH₂, C-5); 28.5 (CH₃, ^tBoc); 24.8 (CH₃); 23.1 (CH₃).

(+)-LR-ESIMS m/z : 459.16 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 459.1582 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₈H₃₂N₂O₆NaS₂: 459.1599).

$[\alpha]_D^{25}$ = -19.3 (c = 0.52, CHCl₃).

Síntesis de (2R)-3-mercapto-2-(3-fenilpropanamido)propanoato de metilo 206

Sobre una disolución del ácido hidrocinámico (**204**) comercial (0.20 g, 1.30 mmol) en THF (8 mL) enfriada a 0 °C, se añadió el agente acoplante CDI (0.23 g, 1.41 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Después de 90 min se volvió a enfriar a 0 °C y se añadió gota a gota una disolución del éster metílico de la L-cisteína (0.35 g, 2.11 mmol) en DMF (5 mL) y la mezcla resultante se agitó 3 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se concentró a vacío y el crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [EtOAc/hexano (1:2)] para dar 0.28 g de una mezcla del dímero **205** y del monómero **206**. Sobre esta mezcla en THF (20 mL) enfriada a 0 °C, se añadió gota a gota otra disolución de NaBH₄ (1.20 g, 32.51 mmol) en MeOH (20 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después se volvió a enfriar a 0 °C y se paró con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (30 mL). Se diluyó con EtOAc (100 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl (30 mL), se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 0.27 g (rendimiento cuantitativo) de (2R)-3-mercapto-2-(3-fenilpropanamido)propanoato de metilo **206**.

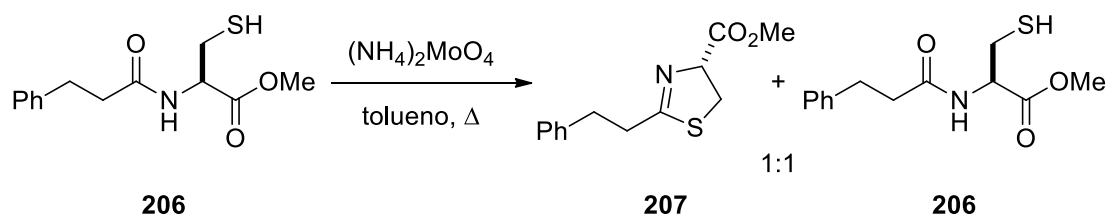
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.31-7.22 (m, 2H, Ph); 7.21-7.12 (m, 3H, Ph); 6.45 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, NH); 4.84 (dt, *J* = 7.2, 4.2 Hz, 1H, HS-CH₂-CH); 3.72 (s, 3H, OCH₃); 2.99-2.90 (m, 2H, HS-CH₂-CH); 2.90-2.85 (m, 2H, Ph-CH₂-CH₂); 2.64-2.46 (m, 2H, Ph-CH₂-CH₂); 1.13 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H, SH).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 171.9 (CO, CO₂Me); 170.6 (CO, CONH); 140.5 (C, Ph); 128.6 (CH, Ph); 128.3 (CH, Ph); 126.3 (CH, Ph); 53.5 (CH₃, OMe); 52.7 (CH, HS-CH₂-CH); 38.0 (CH₂, Ph-CH₂-CH₂); 31.5 (CH₂, Ph-CH₂-CH₂); 26.8 (CH₂, HS-CH₂-CH).

^[a] Las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 268.10 [M+H]⁺, 290.08 [M+Na]⁺.

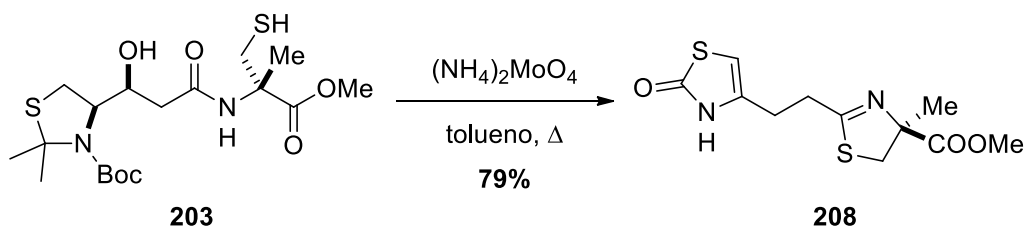
Síntesis de (4*R*)-2-fenetil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxilato de metilo (**207**)



Sobre una disolución de la amida **206** (0.13 g, 0.52 mmol) en tolueno (50 mL) se añadió $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ en cantidad catalítica (10 mg, 0.05 mmol) y la mezcla se agitó toda la noche a reflujo con eliminación azeotrópica de agua. Después de este tiempo, se dejó alcanzar t.a. y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (30 mL) y después con una disolución acuosa saturada de NaCl (30 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar una mezcla de (4*R*)-2-fenetil-4,5-dihidrotiazol-4-carboxilato de metilo (**207**) y la amida **206** sin reaccionar en relación (1:1).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.33-7.24 (m, 2H, Ph); 7.23-7.17 (m, 3H, Ph); 5.07 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, HS-CH₂-CH); 3.80 (s, 3H, OCH₃); 3.60 (dd, $J = 11.2, 9.0$ Hz, 1H, S-CH₂); 3.51 (dd, $J = 11.2, 9.1$ Hz, 1H, S-CH₂); 3.00-2.95 (m, 2H, Ph-CH₂-CH₂); 2.64-2.52 (m, 2H, Ph-CH₂-CH₂).

Síntesis de (4S)-4-metil-2-(2-(2-oxo-2,3-dihidro-1,3-tiazol-4-il)etil)-4,5-dihidro-1,3-tiazol-4-carboxilato de metilo (208)



Sobre una disolución de la amida **203** (70 mg, 0.19 mmol) en tolueno (20 mL) se añadió $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ en cantidad catalítica (4 mg, 0.02 mmol) y la mezcla se agitó durante 16 h a reflujo con eliminación azeotrópica de agua. Después de este tiempo, se dejó alcanzar t.a. y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 y después con una disolución acuosa saturada de NaCl . La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener 42 mg (rendimiento del 79%) de **208** como un aceite amarillo.

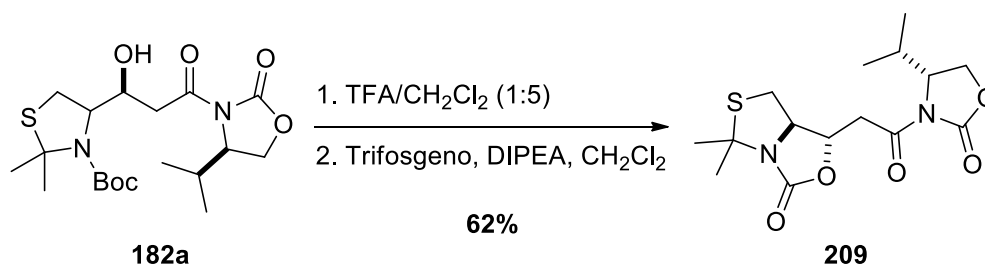
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 5.93 (s, 1H, H-5); 3.83 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, H-3'b); 3.79 (s, 3H, OCH_3); 3.25 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-3); 3.33 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, H-3'a); 3.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-2); 1.69 (s, 3H, CH_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 176.0 (CO, C-1); 172.9 (CO, C-1'); 156.2 (C, C-4); 118.0 (CH, C-5); 82.5 (C, C-2'); 53.1 (CH_3 , OMe); 41.7 (CH_2 , C-3'); 33.0 (CH_2 , C-2); 29.0 (CH_2 , C-3); 23.8 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 287.05 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 287.0529 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$: 287.0518).

Síntesis de (1S,7aR)-1-(2-((R)-4-isopropil-2-oxoxazolidin-3-il)-2-oxoetil)-5,5-dimetil-dihidro-1H-tiazolo[3,4-c]oxazol-3(5H)-ona (209)



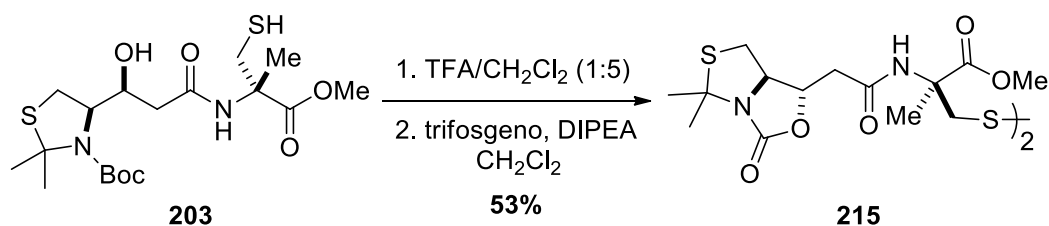
Una disolución de **182a** (80 mg, 0.19 mmol) en una mezcla 1:5 TFA/CH₂Cl₂ (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min y se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (8 mL) y se enfrió a 0 °C, se añadió gota a gota DIPEA (0.085 mL, 0.48 mmol) y se agitó durante 15 min a 0 °C. Después se añadió gota a gota una disolución de trifosgeno (85 mg, 0.28 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL), se agitó durante 90 min a 0 °C, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Después de este tiempo, se añadió una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (10 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 10 mL), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar un crudo que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:1)], para obtener 40 mg (rendimiento del 62 %) de **209** como un sólido blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.42 (ddd, *J* = 8.0, 3.9, 3.2 Hz, 1H, H-3'); 4.33-4.26 (m, 3H, H-3/H-4/H-2'a); 4.23 (dd, *J* = 9.1, 3.2 Hz, 1H, H-2'b); 3.50-3.12 (m, 4H; H-2/H-5); 2.34 (dhept, *J* = 6.9, 3.9 Hz, 1H); 1.64 (s, 3H, CH₃); 1.49 (s, 3H, CH₃); 0.91 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, ^{*i*}Pr); 0.88 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, ^{*i*}Pr).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 169.4 (CO, C-1); 165.6 (CO, C-1'); 154.0 (CO, C-1''); 92.4 (C); 75.3 (CH, C-3); 67.5 (CH, C-3'); 63.8 (CH₂, C-2'); 58.4 (CH, C-4); 38.5 (CH₂, C-2); 30.4 (CH₂, C-5); 28.5 (CH, ^{*i*}Pr); 26.7 (CH₃, Me); 24.3 (CH₃, Me); 17.9 (CH₃, ^{*i*}Pr); 14.8 (CH₃, ^{*i*}Pr).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 343.13 [M+H]⁺; 365.12 [M+Na]⁺.

Síntesis del dímero de (2S)-2-(2-((1S,7aR)-5,5-dimetil-3-oxodihidro-1H,3H,5H-(1,3)tiазоло(3,4-c)(1,3)oxazol-1-il)acetamido)-2-metil-3-sulfanilpropanoato de metilo (215)



Una disolución de **203** (120 mg, 0.28 mmol) en una mezcla 1:5 TFA/CH₂Cl₂ (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Transcurrido este tiempo, se evaporó a sequedad para dar 102 mg (rendimiento cuantitativo) del producto desprotegido, aislado como un sólido blanco.

Sobre una disolución de esta amina (100 mg, 0.30 mmol) en CH₂Cl₂ (12 mL) enfriada a 0 °C, se añadió DIPEA (0.13 mL, 0.74 mmol) gota a gota y se agitó durante 15 min a 0 °C. Después se añadió gota a gota una disolución de trifosgeno (13 mg, 0.44 mmol) en CH₂Cl₂ (4 mL), se agitó 90 min a 0 °C, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Después de este tiempo, se añadió una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (10 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar un crudo que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1 a 1:1)], recogiendo 60 mg (rendimiento del 53%) del dímero **215**, aislado como un sólido amarillo.

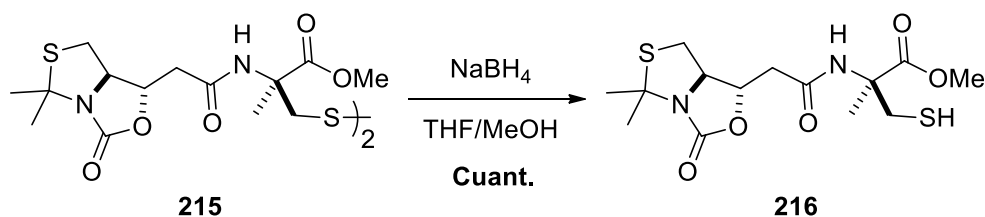
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.36 (ddd, *J* = 10.6, 8.6, 6.9 Hz, 1H, H-4); 4.21-4.14 (m, 1H, H-3); 3.78 (s, 3H, OCH₃); 3.60 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H, H-3'b); 3.38 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H, H-3'a); 3.30 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, H-5b); 3.18 (dd, *J* = 10.9, 6.9 Hz, 1H, H-5a); 2.65 (dd, *J* = 15.3, 5.7 Hz, 1H, H-2b); 2.54 (dd, *J* = 15.3, 6.2 Hz, 1H, H-2a); 1.67 (s, 3H, CH₃); 1.59 (s, 3H, CH₃); 1.55 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 173.1 (CO, C-1'); 168.7 (CO, C-1); 165.9 (CO, C-1''); 92.9 (C); 76.2 (CH, C-3); 67.2 (CH, C-4); 60.5 (C, C-2'); 53.3 (CH₃, OMe); 44.6 (CH₂, C-3'); 39.1 (CH₂, C-2); 30.6 (CH₂, C-5); 26.7 (CH₃, Me); 24.3 (CH₃, Me); 23.2 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 745.17 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 745.1690 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₈H₄₂N₄O₁₀NaS₄: 745.1676).

Síntesis de (2S)-2-(2-((1S,7aR)-5,5-dimetil-3-oxodihidro-1H,3H,5H-(1,3)tiазolo(3,4-c)(1,3)oxazol-1-il)acetamido)-2-metil-3-sulfanilpropanoato de metilo (216)



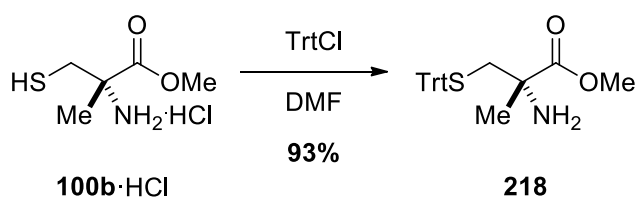
Sobre una disolución del dímero **215** (50 mg, 0.07 mmol) en THF (2 mL) enfriada a 0 °C, se añadió gota a gota otra disolución de NaBH₄ (61 mg, 1.66 mmol) en MeOH (2 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después se volvió a enfriar a 0 °C y se paró con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (3 mL). Se diluyó con EtOAc (20 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 48 mg (rendimiento cuantitativo) de **216**.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.43 (ddd, *J* = 10.8, 8.7, 6.8 Hz, 1H, H-4); 4.23-4.19 (m, 1H, H-3); 3.85 (s, 3H, O CH₃); 3.45 (dd, *J* = 14.0, 8.7 Hz, 1H, H-3'b); 3.35 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H, H-5b); 3.23 (dd, *J* = 10.8, 6.9 Hz, 1H, H-5a); 3.15 (dd, *J* = 14.0, 9.2 Hz, 1H, H-3'a); 2.67 (dd, *J* = 15.1, 5.9 Hz, 1H, H-2b); 2.61 (dd, *J* = 15.1, 6.0 Hz, 1H, H-2a); 1.72 (s, 3H, CH₃); 1.66 (s, 3H, CH₃); 1.60 (s, 3H, CH₃); 1.36 (dd, *J* = 9.2, 8.7 Hz, 1H, SH).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 173.1 (CO, C-1); 168.7 (CO, C-1'); 165.8 (CO, C-1''); 92.7 (C); 76.1 (CH, C-3); 66.9 (CH, C-4); 61.8 (C, C-2'); 53.2 (CH₃, OMe); 38.8 (CH₂, C-2); 30.1 (CH₂, C-3'); 29.9 (CH₂, C-5); 26.7 (CH₃, Me); 24.3 (CH₃, Me); 23.6 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 385.09 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 385.0876 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂₂N₂O₅NaS₂: 385.0862).

Síntesis de (2S)-2-amino-2-metil-3-(trilitio)propanoato de metilo (218)

Sobre una disolución del hidrocloreuro del éster metílico de la 2-metil-D-cisteína (**100b**, 80 mg, 0.43 mmol) en DMF (2 mL), se añadió cloruro de tritilo (0.26 g, 0.95 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Después de este tiempo, se enfrió a 0 °C y se añadió una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 mL), se diluyó con CH₂Cl₂ y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 × 20 mL), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar un crudo que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (2:1)] recogiendo 0.16 g (rendimiento del 93%) de (2S)-2-amino-2-metil-3-(trilitio)propanoato de metilo (**218**) aislado como un sólido cristalino blanco.

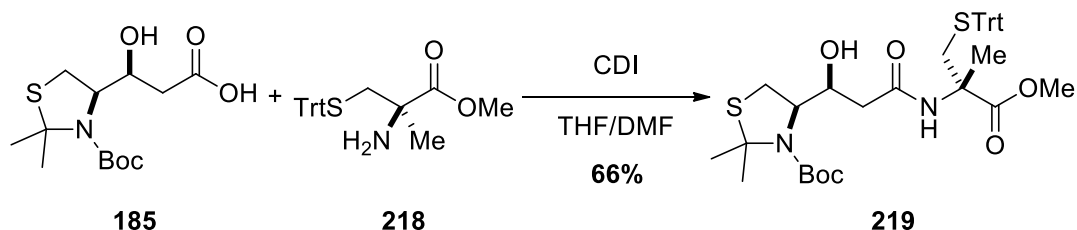
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.50-7.37 (m, 6H, Trt); 7.34-7.16 (m, 9H, Trt); 3.70 (s, 3H, OCH₃); 2.61 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H-3b); 2.37 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H, H-3a); 1.24 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 176.4 (CO, C-1); 144.6 (C, Trt); 129.7 (CH, Trt); 128.0 (CH, Trt); 126.8 (CH, Trt); 66.7 (C, C-2); 57.9 (C, Trt); 52.5 (CH₃, OMe); 42.3 (CH₂, C-3); 26.5 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 392.17 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 392.1683 [M+H]⁺ (calculada para C₂₄H₂₆NO₂S: 392.1678).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*S*)-1-hidroxi-3-(((2*S*)-1-metoxi-2-metil-1-oxo-3-(trilitio)propan-2-il)amino)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *terc*-butilo (219**)**



Sobre una disolución del ácido **185** (60 mg, 0.09 mmol) en THF (4 mL) enfriada a 0 °C, se añadió el agente acoplante CDI (15 mg, 0.09 mmol) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Después de este tiempo se volvió a enfriar a 0 °C, se añadió una disolución de la amina **218** (54 mg, 0.14 mmol) en DMF (2 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después se concentró a sequedad y el crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:1)] para dar 82 mg (rendimiento del 66%) de **219**, aislado como sólido amorfo blanco.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ_H ppm: 7.45-7.33 (m, 5H, Ar); 7.31-7.20 (m, 5H, Ar); 4.56-4.52 (m, 1H, H-3); 4.35-4.23 (m, 1H, H-4); 3.68 (s, 3H, O CH₃); 3.15 (dd, *J* = 12.6, 6.4 Hz, 1H, H-5b); 2.97 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, H-3'b); 2.87 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H, H-5a); 2.79 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, H-3'a); 2.46-2.38 (m, 2H, H-2); 1.78 (s, 3H, CH₃); 1.79 (s, 3H, CH₃); 1.48 (s, 9H, ^tBu); 1.46 (s, 3H, CH₃).

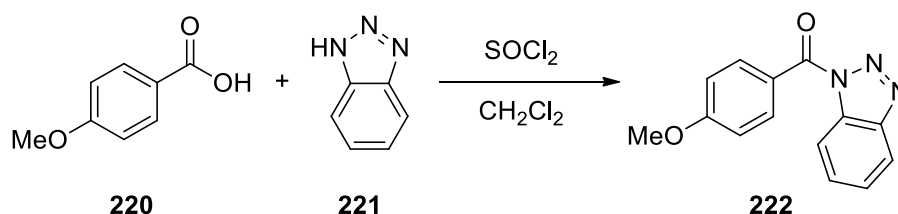
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ_C ppm:^[a] 173.4 (CO, C-1'); 171.1 (CO, C-1); 144.6 (C, Ar); 129.6 (CH, Ar); 128.0 (CH, Ar); 126.8 (CH, Ar); 81.5 (C, Boc); 70.8 (CH, C-4); 67.7 (CH, C-3); 66.5 (C); 59.2 (CH₂, C-3'); 52.9 (CH₃, OMe); 37.9 (CH₂, C-2); 29.8 (CH₂, C-5); 28.5 (CH₃, ^tBoc); 23.2 (CH₃, Me).

^[a]Las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 701.27 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 701.2700 [M+Na]⁺ (calculada para C₃₇H₄₆N₂O₆NaS₂: 701.2689).

[α]_D²⁵ = -25.0 (c = 0.12, CHCl₃).

Síntesis de 1H-benzo((1,2,3)triazol-1-il-(4-metoxifenil))metanona (222)

Sobre una disolución de 1H-benzotriazol (**221**) comercial (0.63 g, 5.31 mmol) en CH_2Cl_2 (7 mL) se añadió SOCl_2 (0.11 mL, 1.43 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se añadió ácido *p*-metoxibenzoico (**220**) comercial (0.20 g, 1.31 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente. Después de 2 h se filtraron las sales formadas, el filtrado se lavó con una disolución acuosa 2 M de NaOH, se secó sobre MgSO_4 anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:4)] para dar 0.30 g (rendimiento del 91 %) de **222** como un sólido cristalino blanco.

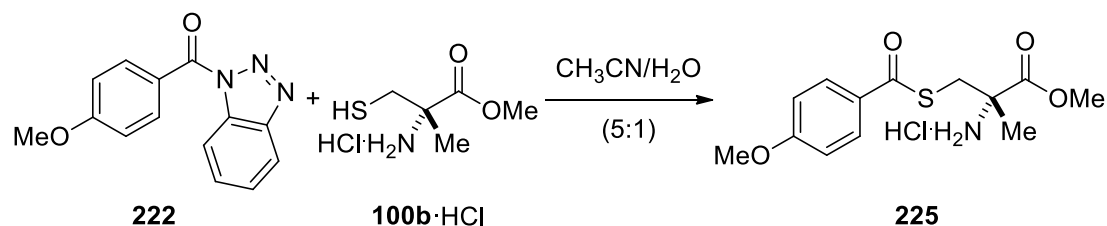
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ_{H} ppm: 8.38 (dt, $J = 8.3, 1.0$ Hz, 1H); 8.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H); 8.17 (dt, $J = 8.3, 1.0$ Hz, 1H); 7.69 (ddd, $J = 8.3, 7.1, 1.1$ Hz, 1H); 7.54 (ddd, $J = 8.3, 7.1, 1.1$ Hz, 1H); 7.07 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H); 3.93 (s, 3H, OMe)

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ_{C} ppm: 165.7 (C); 164.2 (C); 145.6 (C); 134.4 (CH); 132.6 (C); 130.1 (CH); 126.1 (CH); 123.4 (C); 120.1 (CH); 114.8 (CH); 113.9 (CH); 55.6 (CH_3 , OMe).

(+)-LR-ESIMS m/z : 254.09 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 254.0924 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2$: 254.0924).

Síntesis de (2S)-2-amino-3-((4-metoxibenzoil)tio)-2-metilpropanoato de metilo (225)



Sobre una disolución de **222** (0.17 g, 0.67 mmol) en CH₃CN (5 mL) se añadió otra disolución de **100b**·HCl (0.10 g, 0.67 mmol) en H₂O (1 mL) y se agitó la mezcla toda la noche a temperatura ambiente. Después de este tiempo se evaporó el disolvente y el residuo obtenido se redisolvió en H₂O y se filtró. El filtrado se concentró a vacío para dar 0.15 g (rendimiento del 78%) de **225** como un sólido grisáceo.

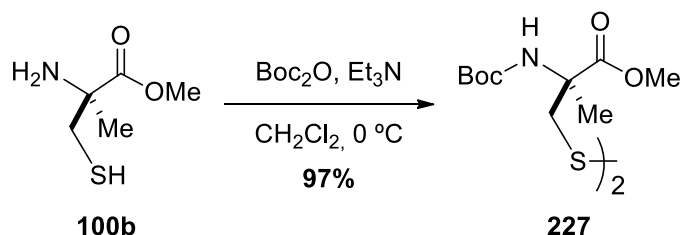
RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 7.96 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ph); 7.02 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, Ph); 3.87 (s, 3H, OCH₃); 3.86 (s, 3H, OCH₃); 3.67 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-3'a); 1.71 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 194.5 (CO, C-1); 176.4 (CO, C-1'); 171.3 (C, Ph); 136.1 (CH, Ph); 134.9 (C, Ph); 132.3 (CH, Ph); 120.4 (CH, Ph); 66.9 (C, C-2'); 61.5 (CH₃, OMe); 59.5 (CH₃, OMe); 40.3 (CH₂, C-3'); 27.6 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 284.09 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 284.0960 [M+H]⁺ (calculada para C₁₃H₁₈NO₄S: 254.0951).

Síntesis del dímero de (2S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-mercapto-2-metilpropa-noato de metilo (**227**)



Sobre una disolución del éster metílico de la D-cisteína (**100b**, 0.20 g, 1.08 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) enfriada a 0 °C, se añadió Et_3N (0.17 g, 1.19 mmol) gota a gota y se agitó 10 min a 0 °C. Después de este tiempo, se añadió una disolución de Boc_2O (0.26 g, 1.19 mmol) en CH_2Cl_2 (1 mL) y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante toda la noche. Se distribuyó la disolución entre EtOAc (20 mL) y H_2O (20 mL), la fracción orgánica se lavó con una disolución saturada de NaCl (20 mL), se secó sobre MgSO_4 anhidro y se filtró. Después de concentrarse a presión reducida, el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/ Et_2O (1:2 a 1:1)] para dar 0.26 g (rendimiento del 97%) de **227** como un sólido blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 3.73 (s, 3H, OCH_3); 3.51-3.39 (m, 1H, H-3b); 3.32 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H, H-3a); 1.53 (s, 3H, CH_3); 1.40 (s, 9H, ^tBu).

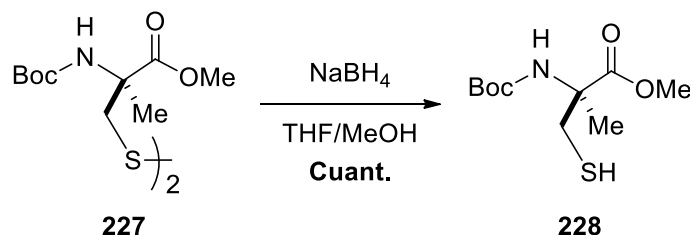
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm:^[a] 173.6 (CO; C-1); 154.3 (CO, Boc); 80.0 (C, Boc); 59.9 (C, C-2); 52.9 (CH_3 , OMe); 46.0 (CH_2 , C-3); 28.5 (CH_3 , ^tBu); 23.6 (CH_3 , Me).

^[a]Las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS m/z : 497.20 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 497.1986 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$: 497.1985).

Síntesis de (2S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-mercapto-2-metilpropanoato de metilo (**228**)



Sobre una disolución del dímero **227** (0.18 g, 0.36 mmol) en una mezcla 1:1 THF/MeOH (10 mL) enfriada a 0 °C, se añadió NaBH₄ (0.33 g, 9.05 mmol) en una sola porción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después se volvió a enfriar a 0 °C y la reacción se paró con una disolución acuosa saturada de NH₄Cl (20 mL). Se diluyó con EtOAc (40 mL), se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 40 mL). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl, se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar 0.18 g (rendimiento cuantitativo) de **228**, como un sólido grisáceo.

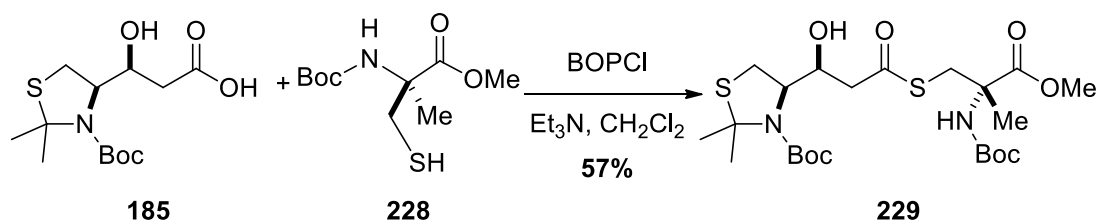
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 3.78 (s, 3H, OCH₃); 3.03 (dd, *J* = 13.9, 9.5 Hz, 1H, H-3b); 2.86 (dd, *J* = 13.9, 9.5 Hz, 1H, H-3a); 1.57 (s, 3H, CH₃); 1.44 (s, 9H, *t*Bu); 1.31 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, SH).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 173.5 (CO; C-1); 154.1 (CO, Boc); 80.1 (C, Boc); 60.9 (C, C-2); 52.8 (CH₃, OMe); 30.9 (CH₂, C-3); 28.3 (CH₃, *t*Bu); 23.0 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 272.09 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 272.0922 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₀H₁₉NO₄NaS: 272.0927).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*S*)-3-(((2*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-metoxi-2-metil-3-oxopropil)tio)-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de *tert*-butilo (229**)**



Sobre una disolución del ácido **185** (80 mg, 0.26 mmol) en CH_2Cl_2 (3 mL) se añadió sucesivamente el tiol **228** (65 mg, 0.26 mmol), Et_3N (72 μL , 0.52 mmol) y el agente acoplante BOPCl (103 mg, 0.39 mmol). Después de 4 h a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc y se lavó, primero con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 y después con una disolución acuosa saturada de NaCl. La fracción orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro y se eliminó el disolvente para dar un crudo que se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:2)] para dar 75 mg (rendimiento del 57%) de **229** como un sólido blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 5.29 (s, 1H, NH); 4.48-4.43 (m, 1H, H-3); 4.41-4.33 (m, 1H, H-4); 3.73 (s, 3H, OCH_3); 3.62-3.59 (m, 2H, H-3'b/a); 3.16 (dd, $J = 12.6, 6.4$ Hz, 1H, H-5b); 2.87-2.69 (m, 3H, H-2/H-5a); 1.76 (s, 3H, CH_3); 1.75 (s, 3H, CH_3); 1.49 (s, 3H, CH_3); 1.49 (s, 9H, ^tBu); 1.41 (s, 9H, ^tBu).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm:^[a] 197.1 (CO, C-1); 173.5 (CO, C-1'); 154.3 (CO; Boc); 81.5 (C, Boc); 80.1 (C); 70.8 (CH, C-4); 63.2 (CH, C-3); 59.3 (C, C-2'); 52.9 (CH_3 , OMe); 48.9 (CH_2 , C-2); 35.2 (CH_2 , C-3'); 30.2 (CH_2 , C-5); 28.4 (CH_3 , ^tBoc); 23.1 (CH_3 , Me); 21.2 (CH_3 , Me).

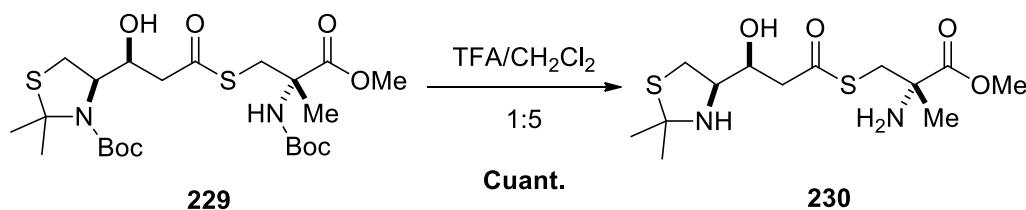
^[a]Las multiplicidades de las señales de los carbonos fueron obtenidas mediante el experimento DEPT-90.

(+)-LR-ESIMS m/z : 537.23 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 537.2281 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$: 537.2298).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -25.3 ($c = 0.21$, CHCl_3).

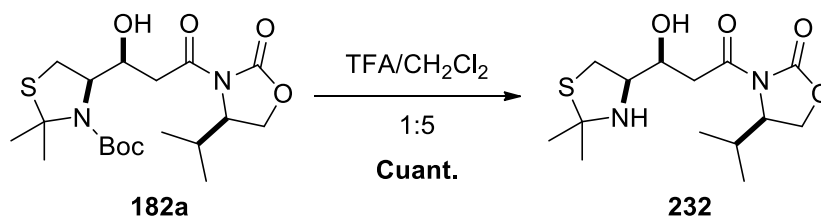
Síntesis de (2S)-2-amino-3-(((3S)-3-((4R)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoil)tio)-2-metilpropanoato de metilo (230)



Una disolución del carbamato **229** (100 mg, 0.24 mmol) en una mezcla 1:5 TFA/CH₂Cl₂ (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Transcurrido este tiempo, se evaporó a sequedad para dar 94 mg (rendimiento cuantitativo) de (2S)-2-amino-3-(((3S)-3-((4R)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoil)tio)-2-metilpropanoato de metilo (**230**) como un sólido amorfo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.29 (s, 1H, NH); 4.48-4.43 (m, 1H, H-3); 4.41-4.33 (m, 1H, H-4); 3.73 (s, 3H, OCH₃); 3.62-3.59 (m, 2H, H-3'b/a); 3.16 (dd, *J* = 12.6, 6.4 Hz, 1H, H-5b); 2.87-2.69 (m, 3H, H-2/H-5a); 1.76 (s, 3H, CH₃); 1.75 (s, 3H, CH₃); 1.49 (s, 3H, CH₃).

Síntesis de (4*R*)-3-((3*S*)-3-((4*R*)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoil)-4-isopropiloxazolidin-2-ona (232)



Una disolución del carbamato **182a** (100 mg, 0.24 mmol) en una mezcla 1:5 TFA/CH₂Cl₂ (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. Transcurrido este tiempo, se evaporó a sequedad para dar 94 mg (rendimiento cuantitativo) de (4*R*)-3-((3*S*)-3-((4*R*)-2,2-dimetiltiazolidin-4-il)-3-hidroxiopropanoil)-4-isopropiloxazolidin-2-ona (**232**) como un sólido blanco.

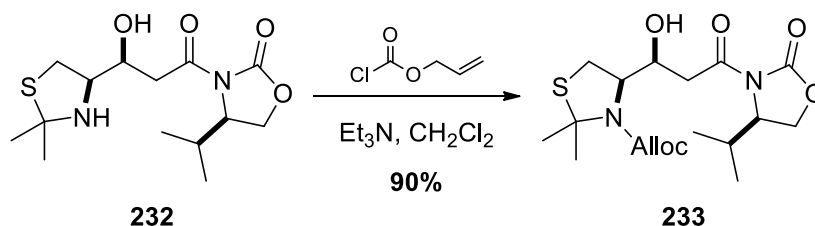
RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD), δ_H ppm: 4.68 (ddd, *J* = 8.7, 4.0, 1.3 Hz, 1H, H-3); 4.49-4.44 (m, 1H, H-3'); 4.37-4.33 (m, 2H, H-2'a/b); 3.67 (dd, *J* = 14.9, 2.2 Hz, 1H, H-5b); 3.50 (ddd, *J* = 3.9, 2.2, 1.3 Hz, 1H, H-4); 2.98 (dd, *J* = 16.9, 3.9 Hz, 1H, H-2a); 2.90 (dd, *J* = 14.9, 3.9 Hz, 1H, H-5a); 2.37-2.25 (m, 1H, ⁱPr); 1.78 (s, 3H, CH₃); 1.54 (s, 3H, CH₃); 0.94 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H, ⁱPr); 0.90 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, ⁱPr).

RMN-¹³C (75 MHz, CD₃OD), δ_C ppm: 170.3 (CO, C-1); 156.10 (CO, C-1'); 82.8 (C); 68.6 (CH, C-3); 65.3 (CH₂, C-2'); 60.1 (CH, C-3'); 45.5 (CH, C-4); 39.6 (CH₂, C-2); 31.1 (CH, ⁱPr); 30.1 (CH₂, C-5); 26.0 (CH₃, Me); 17.9 (CH₃, ⁱPr); 15.2 (CH₃, ⁱPr).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 317.15 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 317.1518 [M+H]⁺ (calculada para C₁₄H₂₅N₂O₄S: 317.1529).

Síntesis de (4R)-4-((1S)-1-hidroxi-3-((4R)-4-isopropil-2-oxooxazolidin-3-il)-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de alilo (233)



Sobre una disolución de **232** (70 mg, 0.17 mmol) en CH_2Cl_2 (3 mL) enfriada a 0 °C, se añadió Et_3N (0.06 mL, 0.42 mmol) gota a gota, se agitó 10 min a 0 °C y se añadió cloroformiato de alilo (25 mg, 0.20 mmol), se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 4 h. Después de este tiempo se enfrió a 0 °C, la reacción se paró con H_2O (3 mL) y se separaron las fases. La fracción orgánica se lavó con una disolución saturada de NaCl (20 mL), se secó sobre MgSO_4 anhidro y se filtró. Después de concentrarse a presión reducida, el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/ EtOAc (3:1 a 2:1)] para dar 61 mg (rendimiento del 90%) de **233** como un sólido blanco.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 5.93 (ddt, $J = 17.3, 10.5, 5.8$ Hz, 1H, H-3''); 5.80 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, NH); 5.31 (dd, $J = 17.3, 1.6$ Hz, 1H, H-4''b); 5.21 (dd, $J = 10.5, 1.6$ Hz, 1H, H-4''a); 4.55 (dd, $J = 5.8, 1.6$ Hz, 2H, H-2''); 4.48 (td, $J = 6.4, 1.5$ Hz, 1H, H-3); 4.41 (dt, $J = 7.5, 3.6$ Hz, 1H, H-3'); 4.28-4.16 (m, 2H, H-2'); 3.88 (ddd, $J = 10.0, 3.7, 1.9$ Hz, 1H, H-4); 3.38 (dd, $J = 14.0, 2.4$ Hz, 1H, H-2b); 3.13-3.01 (m, 2H, H-5b/a); 2.74 (dd, $J = 14.0, 5.9$ Hz, 1H, H-2a); 2.42-2.27 (m, 1H, ^iPr); 1.70 (s, 6H, CH_3); 1.49 (s, 9H, ^tBu); 0.91 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, ^iPr); 0.89 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H, ^iPr).

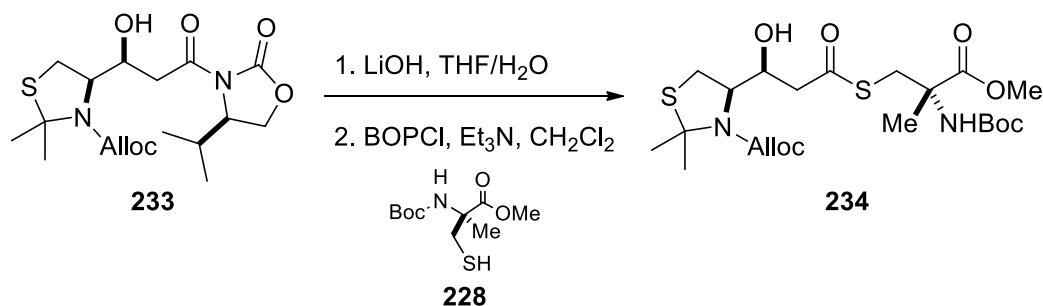
RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 170.1 (CO, C-1); 156.1 (CO, C-1''); 154.0 (CO, Alloc); 132.9 (CH, Alloc); 117.9 (CH_2 , Alloc); 80.8 (C); 69.4 (CH, C-3); 65.9 (CH_2 , C-2'); 63.6 (CH_2 , Alloc); 58.5 (CH, C-3'); 43.2 (CH, ^iPr); 39.1 (CH_2 , C-2); 31.6 (CH_2 , C-5); 31.4 (CH, C-4); 28.6 (CH_3 , Me); 25.9 (CH_3 , Me); 18.2 (CH_3 , ^iPr); 14.9 (CH_3 , ^iPr).

(+)-LR-ESIMS m/z : 401.17 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 401.1741 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 401.1740).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -59.2$ ($c = 0.25$, CHCl_3).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*S*)-3-(((2*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-metoxi-2-metil-3-oxopropil)tio)-1-hidroxi-3-oxopropil)-2,2-dimetiltiazolidin-3-carboxilato de alilo (234**)**



Sobre una disolución de **233** (50 mg, 0.12 mmol) en una mezcla 4:1 de THF/H₂O (4 mL) enfriada a 0 °C, se añadió una disolución acuosa 1.2 M de LiOH (0.25 mL), la disolución resultante se agitó 90 min a 0 °C. La mezcla se concentró a vacío y el residuo se distribuyó entre CH₂Cl₂ (5 mL) y una disolución acuosa de NaHCO₃ al 15% (5 mL), la fase acuosa se acidificó a pH ~2 con HCl(c) y se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se llevaron a sequedad para obtener el correspondiente ácido carboxílico.

El ácido resultante se disolvió en CH₂Cl₂ (3 mL) y se añadieron sucesivamente el tiol **228** (30 mg, 0.11 mmol), Et₃N (0.03 mL, 0.21 mmol) y el agente acoplante BOPCI (45 mg, 0.16 mmol). Después de toda la noche a t.a., se diluyó con EtOAc (10 mL) y se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (10 mL) y después con una disolución acuosa saturada de NaCl (10 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro y se eliminó el disolvente para dar un crudo que se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1)] para dar 30 mg (rendimiento global del 50%) de **234** como un sólido blanco.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.94 (ddt, *J* = 17.4, 10.5, 5.7 Hz, 1H, Alloc); 5.80 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, NH); 5.34 (dd, *J* = 17.2, 1.5 Hz, 1H, Alloc); 5.25 (dd, *J* = 10.4, 1.3 Hz, 1H, Alloc); 4.63-4.53 (m, 2H, Alloc); 4.38 (ddd, *J* = 8.4, 4.9, 1.6 Hz, 1H, H-3); 3.77-3.75 (m, 2H, H-4/H-3'b); 3.74 (s, 3H, OCH₃); 3.69 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H, H-3'a); 3.48 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H, H-5b); 3.34 (dd, *J* = 13.9, 2.4 Hz, 1H, H-5b); 2.73 (dd, *J* = 6.1, 2.3 Hz, 1H, H-2b); 2.69 (dd, *J* = 9.4, 4.3 Hz, 1H, H-2a); 1.67 (s, 3H, CH₃); 1.49 (s, 3H, CH₃); 1.45 (s, 3H, CH₃); 1.43 (s, 9H, ^tBu).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 195.4 (CO, C-1); 173.4 (CO, C-1'); 155.9 (CO, Alloc); 154.1 (CO; Boc); 132.6 (CH, Alloc); 118.0 (CH₂, Alloc); 80.8 (C, Boc); 80.1 (C); 70.0 (CH, C-3); 65.9 (CH₂, Alloc); 59.0 (C, C-2'); 53.1 (CH₃, OMe); 47.2 (CH₂, C-2); 43.0 (CH, C-4); 31.6 (CH₂, C-3'); 31.1 (CH₂, C-5); 29.6 (CH₃, Me); 29.0 (CH₃, ^tBoc); 25.6 (CH₃, Me).

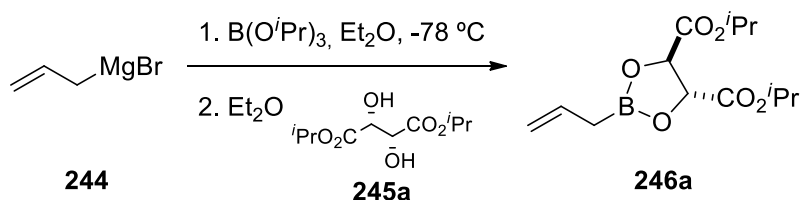
(+)-LR-ESIMS *m/z*: 521.19 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 521.1966 [M+H]⁺ (calculada para C₂₂H₃₇N₂O₈S₂: 521.1985)

4. Compuestos obtenidos en el Capítulo IV

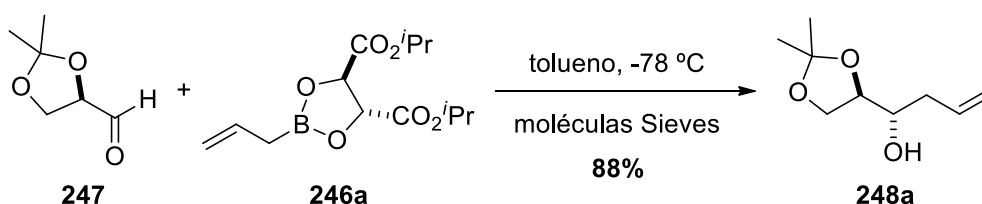
4.1. Síntesis de los compuestos del modelo tipo 1,2-2,4-O₃ (236-239)

Síntesis de (4*R*,5*R*)-2-alil-1,3,2-dioxaborolano-4,5-dicarboxilato de di-*iso*-propilo (**246a**)



Una disolución 1 M de bromuro de alilmagnesio (**244**) comercial (6.90 mL, 6.91 mmol) en Et₂O (4 mL) y otra disolución de borato de tri-*iso*-propilo (1.60 mL, 6.91 mmol) en Et₂O (2 mL), se añadieron separada y simultáneamente a un matraz de fondo redondo con 2 mL de Et₂O previamente enfriado a -78 °C. La mezcla de reacción se agitó 30 min a -78 °C y 3 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se llevó la reacción a 0 °C y se acidificó con una disolución acuosa 1 M de HCl (1 eq.). La mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y después se agitó 10 min. Se separaron las fases, y la fase orgánica se extrajo con una mezcla Et₂O/CH₂Cl₂ (5:1). La fracción orgánica se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente pero sin llevarlo a sequedad.

Sobre una disolución del ácido alilborónico resultante (6.91 mmol) en Et₂O (13 mL) se añadió L-(+)-DIPT (**245a**) comercial (1.45 mL, 6.91 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Transcurrido este tiempo, se añadió MgSO₄ anhidro (500 mg) y se agitó durante 30 min. Se filtró y se concentró a presión reducida bajo Ar para obtener 2.00 g (rendimiento cuantitativo) de (4*R*,5*R*)-2-alil-1,3,2-dioxaborolano-4,5-dicarboxilato de di-*iso*-propilo (**246a**) como un aceite amarillo, que presenta un R_f de 0.3. Debido a la sensibilidad de este producto al aire, fue utilizado sin más caracterización en el siguiente paso sintético.

Síntesis de (1S)-1-((4R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)but-3-en-1-ol (248a)

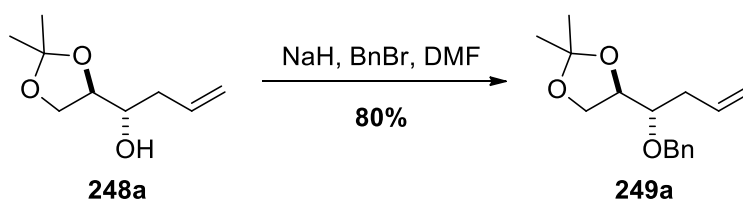
Sobre una disolución del alilboronato **246a** (2.00 g, 7.11 mmol) en tolueno (35 mL) enfriada a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se añadió el aldehído 2,3-protegido **247** (0.77 g, 6.02 mmol) y moléculas Sieves. La mezcla se agitó durante 3 h a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pasado este tiempo se distribuyó entre H_2O (100 mL) y Et_2O (100 mL), se separaron las fases, la fracción acuosa se extrajo con Et_2O (3 x 50 mL) y el disolvente se concentró a presión reducida. El residuo se distribuyó entre Et_2O (50 mL) y una disolución acuosa 1 M de KOH (50 mL). La mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se separaron las fases y la fase acuosa se lavó con Et_2O (3 x 100 mL). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con 50 mL de una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante destilación Kugelrohr a $125\text{ }^{\circ}\text{C}$, obteniéndose 0.91 g (rendimiento del 88%) de (S)-1-((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)but-3-en-1-ol (**248a**) como un aceite incoloro.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 5.91-5.77 (m, 1H, H-5); 5.20-5.13 (m, 2H, H-6); 4.03-3.88 (m, 3H, H-1/H-2); 3.78 (dt, $J = 8.1, 4.5\text{ Hz}$, 1H, H-3); 2.33 (ddd, $J = 14.2, 7.1, 4.5$, 1H, H-4b); 2.28-2.18 (m, 1H, H-4a); 1.42 (s, 3H, CH_3); 1.36 (s, 3H, CH_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 133.9 (CH, C-5); 118.3 (CH_2 , C-6); 109.1(C); 78.1 (CH, C-2); 70.4 (CH, C-3); 65.2 (CH_2 , C-1); 37.6 (CH_2 , C-4); 26.6 (CH_3 , Me); 25.4 (CH_3 , Me).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +15.2$ ($c = 1.2$, CHCl_3).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*S*)-1-(benciloxi)but-3-en-1-il)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**249a**)



Sobre una disolución del alcohol homoalílico **248a** (0.87 g, 5.13 mmol) en DMF (50 mL) enfriada a 0 °C, se añadió NaH (0.38 g, 15.91 mmol). A continuación, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 5 min y 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se volvió a enfriar a 0 °C y se añadió bromuro de bencilo (0.90 mL, 7.61 mmol), se agitó durante 30 min a 0 °C, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante toda la noche. Después de este tiempo, se enfrió a 0 °C y se paró la reacción con 20 mL de H₂O. Se extrajo con EtOAc (2 x 40 mL) y la fase orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaCl (20 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/EtOAc (1:1)] para dar 0.72 g (rendimiento del 80%) de (4*R*)-4-((1*S*)-1-(benciloxi)but-3-en-1-il)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**249a**) como un aceite incoloro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.42-7.26 (m, 5H, Ph); 5.93 (ddt, *J* = 17.2, 10.1, 7.1 Hz, 1H, H-5); 5.22-5.09 (m, 2H, H-6); 4.69 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H, Bn); 4.64 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H, Bn); 4.13 (dd, *J* = 7.8, 6.1 Hz, 1H, H-2); 4.06 (dd, *J* = 7.8, 6.3 Hz, 1H, H-1b); 3.92 (dd, *J* = 7.8, 6.1 Hz, 1H, H-1a); 3.60 (dt, *J* = 6.1, 4.9 Hz, 1H, H-3); 2.53-2.32 (m, 2H, H-4a/H-4b); 1.45 (s, 3H, CH₃); 1.38 (s, 3H, CH₃)

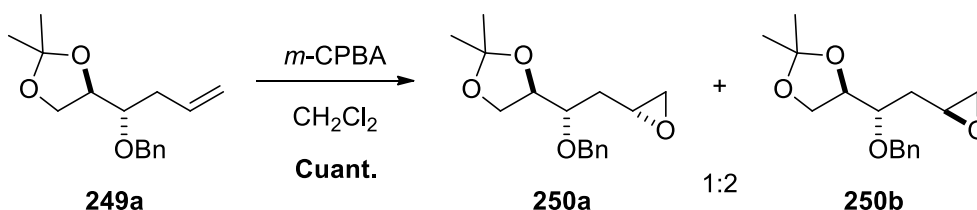
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 138.4 (C, Ph); 134.2 (CH, C-5); 128.3 (CH, Ph); 127.8 (CH, Ph); 127.6 (CH, Ph); 117.5 (CH₂, C-6); 109.1 (C); 78.9 (CH, C-2); 77.3 (CH, C-3); 72.5 (CH₂, Bn); 66.4 (CH₂, C-1); 35.6 (CH₂, C-4); 26.6 (CH₃, Me); 25.4 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 263.16 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 263.1645 [M+H]⁺ (calculada para C₁₆H₂₃O₃: 263.1641).

[α]_D²⁵ = +36.8 (c = 0.51, CHCl₃).

Síntesis de (4R)-4-((1S)-1-(benciloxi)-2-((2R)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (250a) y (4R)-4-((1S)-1-(benciloxi)-2-((2S)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (250b)



Sobre una disolución del alqueno **249a** (0.43 g, 1.61 mmol) en CH_2Cl_2 (17 ml) se añadió ácido *m*-cloroperbenzoico (0.48 g, 2.13 mmol). Después de 12 h a temperatura ambiente, se destruyó el exceso de oxidante con una disolución acuosa saturada de NaSO_3 (15 mL) y se agitó durante 10 min. Se separaron las fases, la fase orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (15 mL) y con otra disolución acuosa saturada de NaCl (15 mL), se secó sobre MgSO_4 anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida. Obteniéndose 0.45 g (rendimiento cuantitativo) de una mezcla de los diastereoisómeros inseparables (4R)-4-((1S)-1-(benciloxi)-2-((2R)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**250a**) y (4R)-4-((1S)-1-(benciloxi)-2-((2S)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**250b**) en relación (1:2) como un aceite amarillo que se usó sin más purificación en el siguiente paso sintético.

Epóxido 250a

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.26 (m, 5H, Ph); 4.69 (s, 2H, Bn); 4.20-4.13 (m, 1H, H-2); 4.09-4.02 (m, 1H, H-1b); 3.91 (dd, $J = 8.1, 6.1$ Hz, 1H, H-1a); 3.65 (ddd, $J = 7.5, 5.7, 4.2$ Hz, 1H, H-3); 3.14-3.05 (m, 1H, H-5); 2.75 (dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, 1H, H-6b); 2.49 (dd, $J = 5.0, 2.7$ Hz, 1H, H-6a); 1.96-1.67 (m, 2H, H-4b/H-4a); 1.41 (s, 3H, CH_3); 1.35 (s, 3H, CH_3).

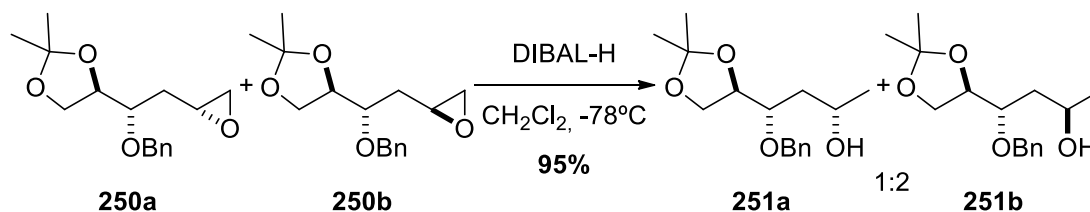
Epóxido 250b

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.26 (m, 5H, Ph); 4.69 (s, 2H, Bn); 4.20-4.13 (m, 1H, H-2); 4.09-4.02 (m, 1H, H-1b); 3.86 (dd, $J = 8.1, 6.3$ Hz, 1H, H-1a); 3.72 (ddd, $J = 7.5, 5.7, 4.2$ Hz, 1H, H-3); 3.14-3.05 (m, 1H, H-5); 2.80 (dd, $J = 5.1, 4.2$ Hz, 1H, H-6b); 2.54 (dd, $J = 5.1, 2.7$ Hz, 1H, H-6a); 1.96-1.67 (m, 2H, H-4b/H-4a); 1.41 (s, 3H, CH_3); 1.35 (s, 3H, CH_3).

(+)-LR-ESIMS m/z : 279.16 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 279.1590 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_4$: 279.1591).

Síntesis de (2S,4S)-4-(benciloxi)-4-((4R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-2-ol (251a) y (2R,4S)-4-(benciloxi)-4-((4R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-2-ol (251b)



Una disolución 1 M de DIBAL-H 1 M en tolueno (5.50 mL, 5.53 mmol) se añadió gota a gota a otra disolución de la mezcla de epóxidos **250** (0.44 g, 1.61 mmol) en CH_2Cl_2 (15 mL) enfriada a -78°C y se agitó a esa temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se añadió una disolución acuosa saturada de la sal de Rochelle (tartrato sódico potásico, 15 mL) y se agitó dejando alcanzar temperatura ambiente. Una vez que la disolución se volvió transparente, se separaron las dos fases, la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL) y los extractos orgánicos recogidos se secaron sobre MgSO_4 anhidro. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 0.42 g (rendimiento del 95%) de la mezcla de los diastereoisómeros inseparables **251a** y **251b** en relación (1:2) aislados como un aceite amarillo.

Alcohol 251a

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.28 (m, 5H, Ph); 4.66 (s, 2H, Bn); 4.19-4.13 (m, 1H, H-2); 4.10-4.03 (m, 1H, H-1b); 3.94-3.83 (m, 1H, H-5); 3.79-3.71 (m, 1H, H-3); 1.75-1.61 (m, 2H, H-4b/H-4a); 1.42 (s, 3H, CH_3); 1.36 (s, 3H, CH_3); 1.16 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H-6).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 137.7 (C, Ph); 128.4 (CH, Ph); 128.0 (CH, Ph); 127.9 (CH, Ph); 109.2 (C); 78.5 (CH, C-2); 78.2 (CH, C-3); 73.1 (CH_2 , Bn); 66.4 (CH, C-5); 65.8 (CH_2 , C-1); 40.2 (CH_2 , C-4); 26.4 (CH_3 , Me); 25.1 (CH_3 , Me); 23.5 (CH_3 , C-6).

Alcohol 251b

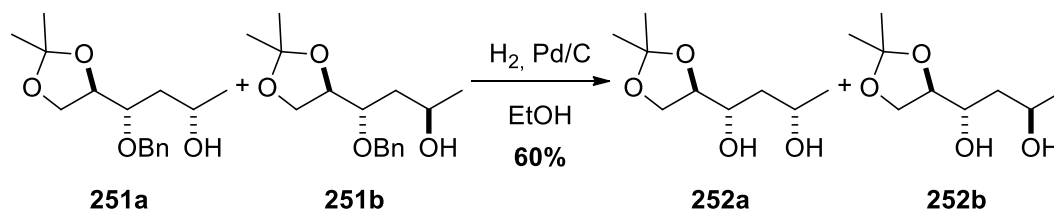
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.28 (m, 5H, Ph); 4.66 (s, 2H, Bn); 4.19-4.13 (m, 1H, H-2); 4.10-4.03 (m, 1H, H-1b); 3.94-3.83 (m, 1H, H-5); 3.74 (td, $J = 6.0, 4.9$ Hz, 1H, H-3); 1.75-1.61 (m, 2H, H-4b/H-4a); 1.42 (s, 3H, CH_3); 1.36 (s, 3H, CH_3); 1.20 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H-6).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 137.9 (C, Ph); 128.5 (CH, Ph); 128.1 (CH, Ph); 128.0 (CH, Ph); 109.3 (C); 77.6 (CH, C-2); 77.6 (CH, C-3); 72.8 (CH_2 , Bn); 66.7 (CH_2 , C-1); 64.7 (CH, C-5); 39.7 (CH_2 , C-4); 26.5 (CH_3 , Me); 25.2 (CH_3 , Me); 23.9 (CH_3 , C-6).

(+)-LR-ESIMS m/z : 281.17 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$; 303.16 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 303.1579 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$: 303.1566).

Síntesis de (1S,3S)-1-((4R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butano-1,3-diol (252a) y (1S,3R)-1-((4R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butano-1,3-diol (252b)



Sobre una disolución de la mezcla **251** (0.42 g, 1.52 mmol) en EtOH (18 mL) se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p, dejándolo reaccionar bajo atmósfera de hidrógeno durante toda la noche. Después de este tiempo, se filtró la disolución a través de celita y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1)] recogiendo 57 mg (rendimiento del 20%) de **252a** y 114 mg (rendimiento del 40%) de **252b**, ambos aceites incoloros en relación (1:2), con un rendimiento global del 60%.

Diol 252a

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.14-4.06 (m, 1H, H-2); 4.05-3.90 (m, 4H, H-1/H-3/H-4); 2.55 (s, 2H, OH); 1.76-1.68 (dt, *J* = 12.5, 2.1 Hz, 1H, H-4b); 1.45 (m, 1H, H-4a); 1.42 (s, 3H, CH₃); 1.36 (s, 3H, CH₃); 1.23 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 109.1 (C); 78.4 (CH, C-2); 72.5 (CH, C-5); 68.9 (CH, C-3); 65.3 (CH₂, C-1); 40.5 (CH₂, C-4); 26.5 (CH₃, Me); 25.2 (CH₃, Me); 24.1 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 191.13 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 191.1275 [M+H]⁺ (calculada para C₉H₁₉O₄: 191.1277).

[α]_D²⁵ = +20.9 (*c* = 0.14, CHCl₃).

Diol 252b

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.18 (dc, *J* = 6.3, 5.0 Hz, 1H, H-2); 4.07-3.89 (m, 4H, H-1/H-3/H-4); 2.46 (s, 2H, OH); 1.65-1.60 (m, 2H, H-4b/H-4a); 1.42 (s, 3H, CH₃); 1.36 (s, 3H, CH₃); 1.26 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, H-6).

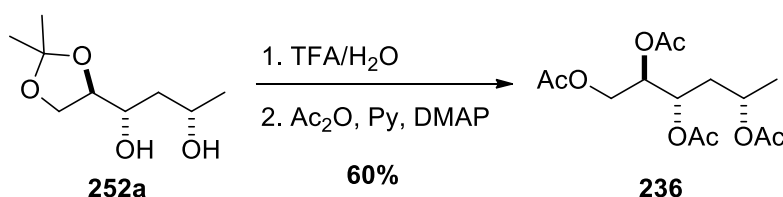
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 109.1 (C); 78.3 (CH, C-2); 69.1 (CH, C-5); 65.5 (CH, C-3); 65.6 (CH₂, C-1); 40.2 (CH₂, C-4); 26.5 (CH₃, Me); 25.2 (CH₃, Me); 23.7 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 191.13 [M+H]⁺; 213.11 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 191.1274 [M+H]⁺ (calculada para C₉H₁₉O₄: 191.1277); 213.1097 [M+Na]⁺ (calculada para C₉H₁₈O₄Na: 213.1097).

[α]_D²⁵ = +4.9 (*c* = 0.25, CHCl₃).

Síntesis de tetraacetato de (2R,3S,5S)-hexano-1,2,3,5-tetrailo (**236**)



Una disolución del diol **252a** (42 mg, 0.23 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente coevaporando 3 veces con tolueno. El crudo se usó sin más purificación en el siguiente paso sintético.

El residuo se disolvió en anhídrido acético (3.20 mL) y en piridina (1.40 mL) y se le añadió una cantidad catalítica de DMAP (6 mg). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y después se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (4:1)] recogiendo 44 mg (rendimiento del 60%) de tetraacetato de (2R,3S,5S)-hexano-1,2,3,5-tetrailo (**236**) como un aceite amarillento.

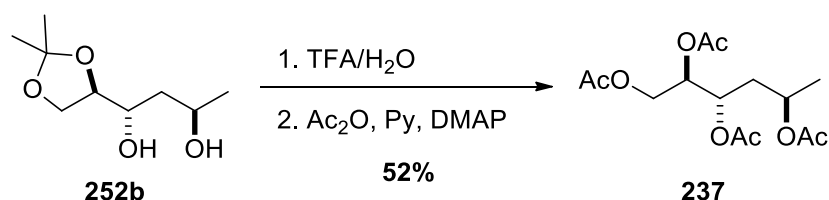
RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 5.19 (ddd, $J = 8.7, 4.2, 4.2$ Hz, 1H, H-3); 5.13 (ddd, $J = 6.9, 4.4, 3.4$ Hz, 1H, H-2); 4.94 (ddc, $J = 6.4, 6.4, 6.4$ Hz, 1H, H-5); 4.28 (dd, $J = 12.2, 3.4$ Hz, 1H, H-1b); 4.14 (dd, $J = 12.2, 6.9$ Hz, 1H, H-1a); 2.07 (s, 3H, OAc); 2.06 (s, 3H, OAc); 2.05 (s, 3H, OAc); 2.02 (s, 3H, OAc); 1.98 (ddd, $J = 14.6, 8.7, 6.4$ Hz, 1H, H-4b); 1.77 (ddd, $J = 14.6, 6.4, 4.2$ Hz, 1H, H-4a), 1.24 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 170.6 (CO, OAc); 170.3 (CO, OAc); 170.1 (CO, OAc); 170.0 (CO, OAc); 71.8 (CH, C-2); 68.9 (CH, C-3); 67.7 (CH, C-5); 61.9 (CH₂, C-1); 36.1 (CH₂, C-4); 21.4 (CH₃, OAc); 20.9 (CH₃, OAc); 20.8 (CH₃, OAc); 20.7 (CH₃, OAc); 19.7 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS m/z : 319.14 [M+H]⁺; 341.12 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 319.1398 [M+H]⁺ (calculada para C₁₄H₂₃O₈: 319.1387); 341.1197 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂₂O₈Na: 341.1206).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -16.4 ($c = 0.15$, CHCl₃).

Síntesis de tetraacetato de (2*R*,3*S*,5*R*)-hexano-1,2,3,5-tetraol (237**)**

Una disolución del diol **252b** (0.10 g, 0.55 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente coevaporando 3 veces con tolueno. El crudo se usó sin más purificación en el siguiente paso sintético.

El residuo se disolvió en anhídrido acético (7.50 mL) y en piridina (3.50 mL) y se añadió una cantidad catalítica de DMAP (14 mg). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y después se evaporó el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice [hexano/EtOAc (2:1)] recogiendo 90 mg (rendimiento del 52%) de tetraacetato de (2*R*,3*S*,5*R*)-hexano-1,2,3,5-tetraol (**237**) como un aceite amarillento.

RMN-¹H (500 MHz, C₇D₈), δ_H ppm: 5.41 (ddd, *J* = 10.7, 4.2, 3.5 Hz, 1H, H-3); 5.24 (ddd, *J* = 7.2, 4.2, 3.5 Hz, 1H, H-2); 5.00 (ddc, *J* = 10.2, 6.5, 3.5 Hz, 1H, H-5); 4.20 (dd, *J* = 12.1, 4.2 Hz, 1H, H-1b); 4.13 (dd, *J* = 12.1, 7.2 Hz, 1H, H-1a); 1.79 (s, 3H, OAc); 1.77 (s, 3H, OAc); 1.74 (s, 3H, OAc); 1.71 (s, 3H, OAc); 1.64 (ddd, *J* = 14.5, 10.2, 4.2 Hz, 1H, H-4b); 1.56 (ddd, *J* = 14.5, 10.7, 3.5 Hz, 1H, H-4a); 1.04 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, H-6).

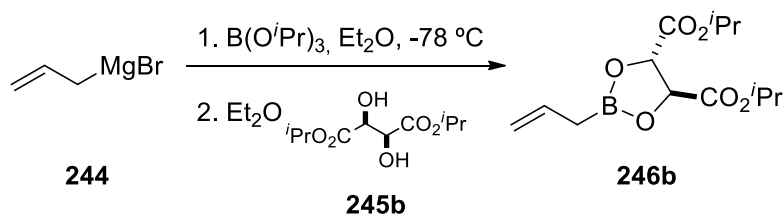
RMN-¹³C (125 MHz, C₇D₈), δ_C ppm:^[a] 170.0 (CO, OAc); 169.9 (CO, OAc); 169.8 (CO, OAc); 169.7 (CO, OAc); 72.6 (CH, C-2); 68.2 (CH, C-3); 65.9 (CH, C-5); 62.1 (CH₂, C-1); 36.5 (CH₂, C-4); 20.8 (CH₃, C-6); 20.5 (CH₃, OAc); 20.4 (CH₃, OAc); 20.3 (CH₃, OAc); 20.2 (CH₃, OAc).

^[a]Las multiplicidades de las señales de ¹³C fueron determinadas mediante el experimento bidimensional HSQC.

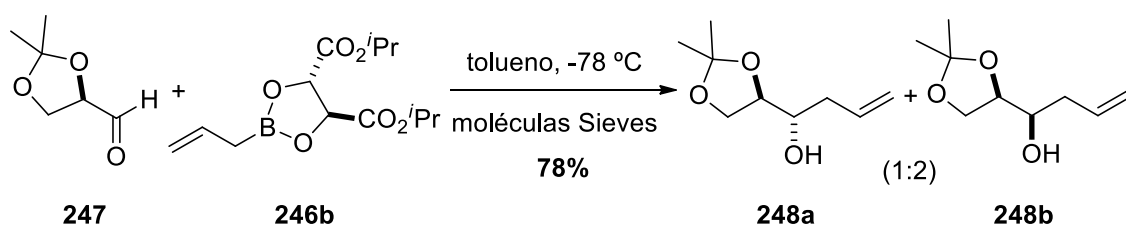
(+)-LR-ESIMS *m/z*: 341.12 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 341.1210 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂₂O₈Na: 341.1206).

[α]_D²⁵ = +15.5 (*c* = 0.51, CHCl₃).

Síntesis de (4*S*,5*S*)-2-alil-1,3,2-dioxaborolano-4,5-dicarboxilato de di-*iso*-propilo (246b)


Sobre una disolución del ácido alilborónico (13.12 mmol), preparado como se describió anteriormente, en Et_2O (50 mL) se añadió D-(-)-DIPT (**245b**) comercial (2.72 mL, 13.12 mmol) y siguiendo un procedimiento similar al descrito para alilboronato **246a**, se obtuvieron 3.72 g (rendimiento cuantitativo) de (4*S*,5*S*)-2-alil-1,3,2-dioxaborolano-4,5-dicarboxilato de di-*iso*-propilo (**246b**) como un aceite amarillo que presenta un R_f de 0.3. Debido a la sensibilidad de este producto al aire, fue utilizado sin más caracterización en el siguiente paso sintético.

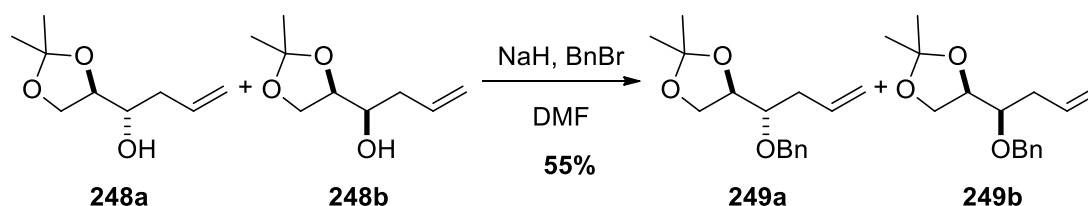
Síntesis de (1*R*)-1-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)but-3-en-1-ol (248b**)**


Sobre una disolución del alilboronato **246b** (3.69 g, 13.00 mmol) en tolueno (80 mL) enfriada a -78 °C, se añadió el aldehído **247** (1.35 g, 10.43 mmol) y moléculas Sieves. Siguiendo un procedimiento similar al descrito para el alcohol alílico **248a** se obtuvo un crudo de reacción que se purificó mediante destilación Kugelrohr a 125 °C, recogiendo 1.44 g (rendimiento del 78%) de la mezcla de los diastereoisómeros (1*S*)-1-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)but-3-en-1-ol (**248a**) y (1*R*)-1-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)but-3-en-1-ol (**248b**) en relación (1:2.5) como un aceite incoloro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.97-5.75 (m, 2H); 5.22-5.08 (m, 3H); 4.07-3.97 (m, 3H); 3.80-3.71 (m, 2H); 3.63-3.56 (m, 1H); 2.42-2.28 (m, 1H); 2.28-2.19 (m, 3H); 1.44 (s, 3H); 1.43 (s, 2H); 1.37 (s, 3H); 1.36 (s, 2H).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 134.0 (CH); 118.3 (CH₂); 117.8 (CH₂); 109.4 (C); 109.1 (C); 78.4 (CH); 78.1 (CH); 71.5 (CH); 70.4 (CH); 66.0 (CH); 65.2 (CH₂); 38.3 (CH₂); 37.6 (CH₂); 26.7 (CH₃); 26.6 (CH₃); 25.5 (CH₃); 25.4 (CH₃).

Síntesis de (4*R*)-4-((1*R*)-1-(benciloxi)but-3-en-1-il)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**249b**)



Se añadió NaH (0.35 g, 13.91 mmol) a una disolución de la mezcla de alcoholes **248** (0.80 g, 4.62 mmol) en DMF (45 mL) enfriada a 0 °C, después se agitó a 0 °C durante 5 min y 1 h a temperatura ambiente, se volvió a enfriar a 0 °C y se añadió bromuro de bencilo (0.83 mL, 7.00 mmol). Siguiendo un procedimiento similar al descrito para el éter bencilíco **249a** se obtuvo un crudo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice [hexano/EtOAc (9:1)] obteniéndose 1.050 g (rendimiento del 87%) de la mezcla de los dos diastereoisómeros **249a** y **249b** en proporción (1:2) que fueron separaron mediante HPLC usando una columna Eclipse® HS F5 (25 cm x 10 mm, 5 µm) con una fase móvil consistente en un isocrático 20% MeOH en H₂O (v/v,) con un flujo de 1.5 mL/min (λ = 254 nm, t_R = 17.9 min) para dar 0.65 g (rendimiento del 55%) de (4*R*)-4-((1*R*)-1-(benciloxi)but-3-en-1-il)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**249b**) como un aceite incoloro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.43-7.25 (m, 5H, Ph); 5.87 (ddt, J = 17.2, 10.0, 7.2 Hz, 1H, H-5); 5.20-5.04 (m, 2H, H-6a/b); 4.72 (d, J = 14.2 Hz, 1H, Bn); 4.62 (d, J = 14.2 Hz, 1H, Bn); 4.21 (dt, J = 7.3, 6.5 Hz, 1H, H-2); 3.98 (dd, J = 8.2, 6.5 Hz, 1H, H-1b); 3.71 (dd, J = 8.2, 7.3 Hz, 1H, H-1a); 3.55-3.47 (m, 1H, H-3); 2.18-2.39 (m, 2H, H-4a/b); 1.43 (s, 3H, CH₃); 1.37 (s, 3H, CH₃).

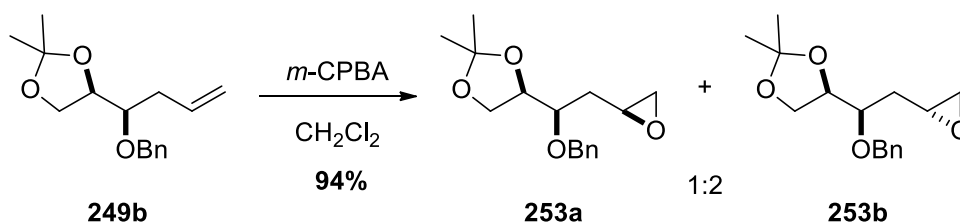
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 138.6 (C, Ph); 134.5 (CH, C-5); 128.3 (CH, Ph); 127.9 (CH, Ph); 127.5 (CH, Ph); 117.2 (CH₂, C-6); 109.3(C); 79.3 (CH, C-3); 77.9 (CH, C-2); 72.6 (CH₂); 65.8 (CH₂, C-1); 35.1 (CH₂, C-4); 26.5 (CH₃, Me); 25.4 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 285.15 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 285.1468 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₆H₂₂O₃Na: 285.1461).

$[\alpha]^{25}_D$ = +10.2 (c = 1.1, CHCl₃).

Síntesis de (4R)-4-((1R)-1-(benciloxi)-2-((2S)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (253a) y (4R)-4-((1R)-1-(benciloxi)-2-((2R)-oxiran-2-il)etil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (253b)



Sobre una disolución del alqueno **249b** (0.55 g, 2.10 mmol) en CH_2Cl_2 (21 mL) se añadió ácido *m*-cloroperbenzoico (0.62 g, 2.70 mmol). Siguiendo un procedimiento similar al descrito para la obtención de la mezcla de epóxidos **250**, se recogieron 0.58 g (rendimiento del 94%) de la mezcla de los epóxidos inseparables **253a** y **253b** en relación (1:2) como un aceite amarillo.

Epóxido 253a

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.29 (m, 5H, Ph); 4.85-4.65 (m, 2H, Bn), 4.36 (dt, $J = 7.3, 6.5$ Hz, 1H, H-2); 4.03 (dd, $J = 8.2, 6.5$ Hz, 1H, H-1b); 3.76-3.70 (m, 1H, H-1a); 3.65 (m, 1H, H-3); 3.14-3.06 (m, 1H, H-5); 2.73 (dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, 1H, H-6b); 2.46 (dd, $J = 5.0, 2.7$ Hz, 1H, H-2a); 1.70-1.62 (m, 1H, H-4b); 1.49 (ddd, $J = 10.2, 7.1, 3.1$ Hz, 1H, H-4a); 1.44 (s, 3H, CH_3); 1.38 (s, 3H, CH_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 138.3 (C, Ph); 128.3 (CH, Ph); 128.0 (CH, Ph); 127.6 (CH, Ph); 109.4 (C); 77.6 (CH, C-3); 77.4 (CH, C-2); 72.4 (CH_2 , Bn); 65.8 (CH_2 , C-1); 49.4 (CH, C-5); 46.8 (CH_2 , C-6); 33.8 (CH_2 , C-4); 26.5 (CH_3 , Me); 25.3 (CH_3 , Me).

Epóxido 253b

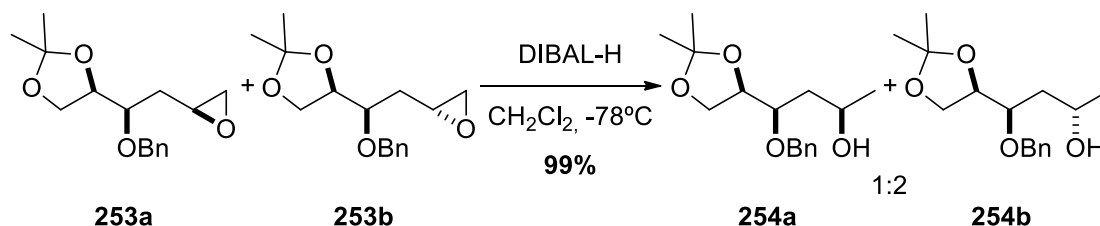
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.39-7.29 (m, 5H, Ph); 4.85-4.65 (m, 2H, Bn); 4.24 (dt, $J = 7.0, 6.4$ Hz, 1H, H-2); 3.99 (dd, $J = 8.3, 6.5$ Hz, 1H, H-1b); 3.78-3.70 (m, 1H, 2H, H-1a/H-3); 3.14-3.09 (m, 1H, H-5); 2.81 (dd, $J = 5.0, 4.0$ Hz, 1H, H-6b); 2.52 (dd, $J = 5.0, 2.7$ Hz, 1H, H-6a); 1.86-1.75 (m, 2H, H-a/b); 1.44 (s, 3H, CH_3); 1.38 (s, 3H, CH_3).

RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 138.3 (C, Ph); 128.3 (CH, Ph); 128.0 (CH, Ph); 127.6 (CH, Ph); 109.4 (C); 78.0 (CH, C-3); 77.5 (CH, C-2); 73.4 (CH_2 , Bn); 65.7 (CH_2 , C-1); 49.6 (CH, C-5); 47.8 (CH_2 , C-6); 34.3 (CH_2 , C-4); 26.5 (CH_3 , Me); 25.1 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 279.16 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 279.1590 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_4$: 279.1591).

Síntesis de (2*R*,4*R*)-4-(benciloxi)-4-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-2-ol (254a) y (2*S*,4*R*)-4-(benciloxi)-4-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-2-ol (254b)



Una disolución 1 M de DIBAL-H en tolueno (5.25 mL, 5.21 mmol) se añadió gota a gota a otra disolución de la mezcla de epóxidos **253** (0.50 g, 1.83 mmol) en CH₂Cl₂ (18 mL) enfriada a -78 °C y siguiendo un procedimiento similar al descrito para la preparación de **251**, se obtuvieron 0.51 g (rendimiento del 99%) de la mezcla de los alcoholes inseparables **254a** y **254b** en relación (1:2) aislados como un aceite amarillo.

Alcohol 254a

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.39-7.28 (m, 5H); 4.83 (dd, *J* = 11.5, 7.7 Hz, 1H); 4.66 (dd, *J* = 11.5, 8.2 Hz, 1H); 4.26 (ddt, *J* = 7.3, 6.5, 2.5 Hz, 1H); 4.03-3.96 (m, 2H); 3.78-3.63 (m, 2H); 1.63-1.47 (m, 2H); 1.44 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.14 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 137.9 (C); 128.6 (CH); 128.1 (CH); 127.9 (CH); 109.4 (C); 78.5 (CH); 76.9 (CH); 72.8 (CH₂); 66.7 (CH); 65.9 (CH₂); 38.8 (CH₂); 26.4 (CH₃); 25.2 (CH₃); 23.5 (CH₃).

Alcohol 254b

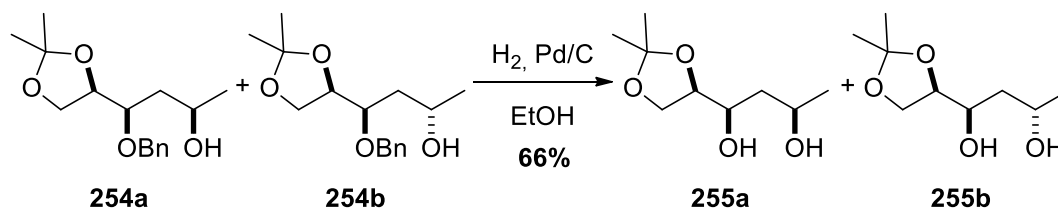
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.39-7.28 (m, 5H); 4.83 (dd, *J* = 11.5, 7.7 Hz, 1H); 4.66 (dd, *J* = 11.5, 8.2 Hz, 1H); 4.26 (ddt, *J* = 7.3, 6.5, 2.5 Hz, 1H); 4.03-3.96 (m, 2H); 3.78-3.63 (m, 2H); 1.63-1.47 (m, 2H); 1.45 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.17 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 138.3 (C); 128.5 (CH); 128.2 (CH); 127.8 (CH); 109.5 (C); 79.8 (CH); 78.1 (CH); 73.0 (CH₂); 64.5 (CH); 65.9 (CH₂); 39.5 (CH₂); 26.5 (CH₃); 25.4 (CH₃); 23.9 (CH₃).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 281.17 [M+H]⁺; 303.16 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 303.1579 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₆H₂₄O₄Na: 303.1566).

Síntesis de (1*R*,3*R*)-1-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-1,3-diol (255a) y (1*R*,3*S*)-1-((4*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)butan-1,3-diol (255b)



Sobre una disolución de **254** (0.48 g, 2.10 mmol) en EtOH (21 mL) se añadió una cantidad catalítica de paladio sobre carbón activo al 5% en p/p y siguiendo un procedimiento similar al descrito para la obtención de los dioles **252**, se obtuvo un crudo que se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1 a 10:1)] recogiendo 72 mg (rendimiento del 21%) de **255a** y 153 mg (rendimiento 45%) de **255b**, ambos aceites incoloros en relación (1:2) con un rendimiento global del 66%.

Diol 255a

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.12-4.03 (m, 2H, H-5); 4.02-3.96 (m, 2H, H-1a/b); 3.83-3.68 (m, 2H, H-3/H-2); 3.30 (s, 1H, OH); 3.04 (s, 1H, OH); 1.64-1.46 (m, 2H, H-4a/b); 1.43 (s, 3H, CH₃); 1.35 (s, 3H, CH₃); 1.20 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 109.6 (C); 78.8 (CH, C-2); 73.1 (CH, C-5); 67.9 (CH, C-3); 65.8 (CH₂, C-1); 40.9 (CH₂, C-4); 26.6 (CH₃, Me); 25.1 (CH₃, Me); 23.8 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 213.11 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 213.1102 [M+Na]⁺ (calculada para C₉H₁₈O₄Na: 213.1097).

Diol 255b

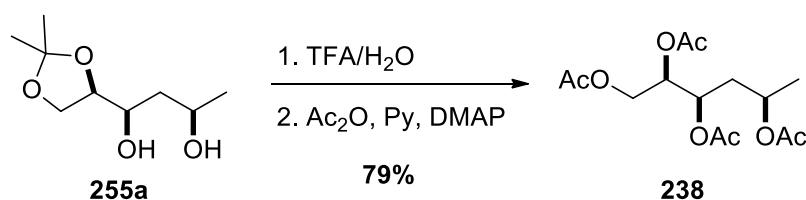
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.21-4.10 (m, 1H, H-5); 4.07-3.98 (m, 2H, H-1a/b); 3.88-3.78 (m, 1H, H-3); 3.77-3.70 (m, 1H, H-2); 2.58 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH); 2.32 (s, 1H, OH); 1.65-1.58 (m, 1H, H-4b); 1.51-1.45 (m, 1H, H-4a); 1.44 (s, 3H, CH₃), 1.37 (s, 3H, CH₃); 1.24 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 109.6 (C); 79.1 (CH, C-2); 69.6 (CH, C-5); 66.0 (CH₂, C-1); 64.8 (CH, C-3); 41.3 (CH₂, C-4); 26.6 (CH₃, Me); 25.3 (CH₃, Me); 23.7 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 213.11 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 213.1105 [M+Na]⁺ (calculada para C₉H₁₈O₄Na: 213.1097).

Síntesis de tetraacetato de (2*R*,3*R*,5*R*)-hexano-1,2,3,5-tetrailo (**238**)



Una disolución del diol **255a** (26 mg, 0.14 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente coevaporando 3 veces con tolueno. El crudo se usó sin más purificación en el siguiente paso sintético.

El residuo se disolvió en anhídrido acético (2 mL) y en piridina (1 mL) y se añadió una cantidad catalítica de DMAP (5 mg), siguiendo un procedimiento similar al descrito para la obtención de **236**, se obtuvo un crudo que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (3:1 a 2:1)] para dar 35 mg (rendimiento del 79%) de tetraacetato de (2*R*,3*R*,5*R*)-hexano-1,2,3,5-tetrailo (**238**) como un aceite amarillento.

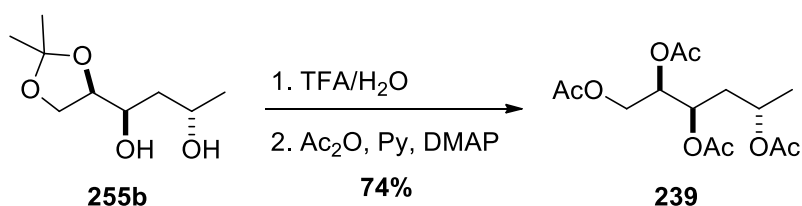
RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.22 (ddd, *J* = 6.7, 4.6, 4.6 Hz, 1H, H-2); 5.18 (ddd, *J* = 7.8, 4.6, 4.6 Hz, 1H, H-3); 4.92 (ddc, *J* = 6.4, 6.4, 6.4 Hz, 1H, H-5); 4.27 (dd, *J* = 11.8, 4.6 Hz, 1H, H-1b); 4.03 (dd, *J* = 11.8, 6.7 Hz, 1H, H-1a); 2.11 (s, 3H, OAc); 2.09 (s, 3H, OAc); 2.05 (s, 2H, OAc); 2.03 (s, 3H, OAc); 1.92 (ddd, *J* = 14.5, 7.8, 6.4 Hz, 1H, H-4b); 1.75 (ddd, *J* = 14.5, 6.4, 4.6 Hz, 1H, H-4a); 1.26 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 170.4 (CO, OAc); 170.3 (CO, OAc); 170.1 (CO, OAc); 170.0 (CO, OAc); 71.1 (CH, C-2); 68.6 (CH, C-3); 67.6 (CH, C-5); 62.2 (CH₂, C-1); 36.6 (CH₂, C-4); 21.2 (CH₃, OAc); 20.8 (CH₃, OAc); 20.7 (CH₃, OAc); 20.6 (CH₃, OAc); 19.8 (CH₃, C-6).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 341.12 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 341.1197 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂₂O₈Na: 341.1206).

[α]_D²⁵ = +26.3 (*c* = 0.18, CHCl₃).

Síntesis de tetraacetato de (2R,3R,5S)-hexano-1,2,3,5-tetraol (239)

Una disolución del diol **255b** (33 mg, 0.17 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente coevaporando 3 veces con tolueno. El crudo se usó sin más purificación en el siguiente paso sintético.

El residuo se disolvió en anhídrido acético (2.50 mL) y en piridina (1.20 mL) y se añadió una cantidad catalítica de DMAP (6 mg). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y después se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:3 a 1:2)] para dar 40 mg (rendimiento del 74%) de tetraacetato de (2R,3R,5S)-hexano-1,2,3,5-tetraol (**239**) como un aceite amarillento.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.24 (ddd, *J* = 7.9, 6.2, 4.0 Hz, 1H, H-3); 5.16 (ddd, *J* = 7.1, 4.0, 4.0 Hz, 1H, H-2); 4.85 (ddc, *J* = 6.0, 6.0, 6.0 Hz, 1H, H-5); 4.27 (dd, *J* = 11.9, 4.0 Hz, 1H, H-1b); 3.97 (dd, *J* = 11.9, 7.1 Hz, 1H, H-1a); 2.09 (s, 3H, OAc); 1.77 (ddd, *J* = 11.0, 6.2 Hz, 1H, H-4b); 1.76 (ddd, *J* = 11.0, 6.2 Hz, 1H, H-4a); 2.04 (s, 3H, OAc); 2.02 (s, 3H, OAc); 2.00 (s, 3H, OAc); 1.77 (m, 1H, H-4a); 1.21 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H, H-6).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 170.6 (CO, OAc); 170.5 (CO, OAc); 170.2 (CO, OAc); 170.1 (CO, OAc); 71.6 (CH, C-2); 67.7 (CH, C-3); 66.3 (CH, C-5); 62.4 (CH₂, C-1); 36.7 (CH₂, C-4); 21.2 (CH₃, OAc); 20.8 (CH₃, OAc); 20.7 (CH₃, OAc); 20.6 (CH₃, OAc); 20.4 (CH₃, C-6).

^[a]Las multiplicidades de las señales de ¹³C fueron determinadas mediante el experimento bidimensional HSQC.

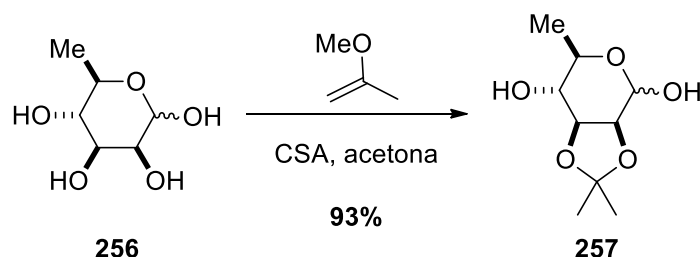
(+)-LR-ESIMS *m/z*: 341.12 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 341.1204 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₄H₂₂O₈Na: 341.1206).

[α]_D²⁵ = -32.5 (c = 0.12, CHCl₃).

4.2. Síntesis de los compuestos del modelo tipo 1,2-2,3-O₃ (240 y 241)

Síntesis de 2,3-O-isopropiliden-D-ramnopiranososa (257)



Sobre una suspensión de D-ramnosa (**256**) comercial (4.00 g, 24.00 mmol) en acetona (120 mL), se añadió 2-metoxipropeno (2.80 mL, 29.0. mmol) y ácido canforsulfónico (0.20 g, 1.21 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche. Transcurrido este tiempo, se neutralizó con Na₂CO₃ y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para seguidamente purificarlo por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:3)]. Se obtuvieron 4.46 g (rendimiento del 93%) de 2,3-O-isopropiliden-D-ramnopiranososa (**257**), aislado como un sólido blanco.

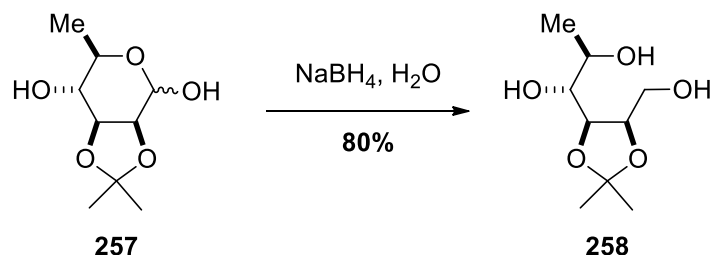
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 5.43 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-1); 4.89 (dd, *J* = 5.9, 3.8 Hz, 1H, H-2); 4.62 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H, H-3); 3.96 (dd, *J* = 7.3, 3.8, 1H, H-5); 2.71 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-4); 1.49 (s, 3H, CH₃); 1.35 (s, 3H, CH₃); 1.34 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 112.6 (C); 100.9 (CH, C-1); 85.5 (CH, C-2); 88.6 (CH, C-3); 80.1 (CH, C-5); 66.7 (CH, C-4); 26.1 (CH₃, Me); 24.7 (CH₃, Me); 20.4 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 205.10 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 205.1039 [M+H]⁺ (calculada para C₉H₁₆O₅: 205.1031).

Síntesis de (1*R*,2*R*)-1-((4*S*,5*R*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)propano-1,2-diol (258**)**



A una disolución de **257** (4.24 g, 20.71 mmol) en H₂O (55 mL) enfriada a 0 °C, se le añadió gota a gota una disolución de NaBH₄ (2.37 g, 62.31 mmol) en H₂O (28 mL). Después de 4 h a temperatura ambiente, se paró la reacción añadiendo AcOH hasta observar que no se desprende H₂. Se evaporó el disolvente y el residuo se extrajo con CH₂Cl₂. Se filtró con celita y se concentró a presión reducida para seguidamente ser purificado por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (9:1)] para obtener 3.41 g (rendimiento del 80%) de (1*R*,2*R*)-1-((4*S*,5*R*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)propano-1,2-diol (**258**) como un aceite amarillo-naranja.

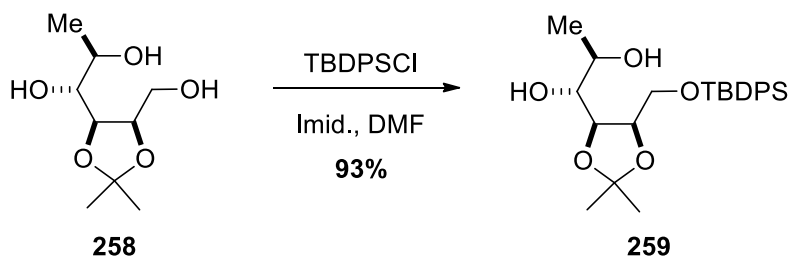
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.41 (dd, *J* = 6.9, 2.3 Hz, 1H, H-2); 4.29 (dd, *J* = 6.9, 4.9 Hz, 1H, H-3); 3.90-3.75 (m, 3H, H-5/H-4/H-1b); 3.58 (dd, *J* = 6.1, 2.4 Hz, 1H, H-1a); 1.51 (s, 3H, CH₃); 1.39 (s, 3H, CH₃); 1.31 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 108.3 (C); 77.5 (CH, C-2); 75.6 (CH, C-3); 72.0 (CH, C-4); 69.8 (CH, C-5); 61.2 (CH₂, C-1); 27.1 (CH₃, Me); 24.9 (CH₃, Me); 20.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 207.12 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 207.1184 [M+H]⁺ (calculada para C₉H₁₈O₅: 207.1188).

Síntesis de (1*R*,2*R*)-1-((4*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)propano-1,2-diol (259)



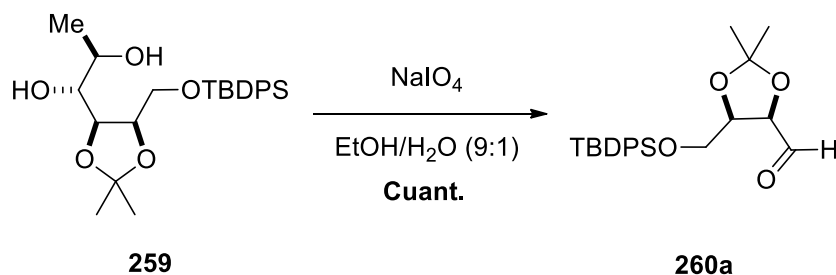
Sobre una disolución de **258** (1.54 g, 7.50 mmol) en DMF (20 mL) enfriada a -20 °C, se añadió imidazol (1.02 g, 15.00 mmol) y se agitó durante 15 min, después se añadió TBDPSCI (2 mL, 7.5 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante 8 h a -20 °C y toda la noche a 0 °C. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo se redisolvió con EtOAc (50 mL) y se lavó con H₂O (20 mL) y después con una disolución acuosa saturada de NaCl (20 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y concentró a presión reducida para dar un crudo que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:2)] para rendir 2.10 g (rendimiento del 93%) de (1*R*,2*R*)-1-((4*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)propano-1,2-diol (**259**) como un aceite amarillo.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.68-7.62 (m, 4H, Ph); 7.39-7.35 (m, 6H, Ph); 4.40 (dd, *J* = 2.7, 6.9 Hz, 1H, H-3); 4.35-4.21 (m, 1H, H-2); 4.14-3.97 (m, 1H, H-4); 3.80-3.76 (m, 1H, H-1b); 3.73-3.09 (m, 1H, H-1a); 3.48 (dc, *J* = 1.6, 6.4 Hz, 1H, H-5); 1.47 (s, 3H, CH₃); 1.31 (s, 3H, CH₃); 1.28 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, C-6); 1.09 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 467.22 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 467.2231 [M+H]⁺ (calculada para C₂₅H₃₆O₅NaSi: 467.2224).

Síntesis de (4*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carbaldehído (260a)

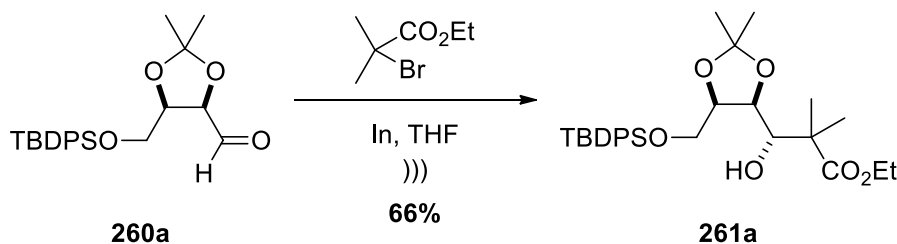


Sobre una disolución de **259** (0.80 g, 1.81 mmol) en 20 mL de una mezcla 9:1 EtOH/H₂O se añadió NaIO₄ (1.16 g, 5.40 mmol). Después de toda la noche a temperatura ambiente, se diluyó con CH₂Cl₂, se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se distribuyó entre CH₂Cl₂ y H₂O, se separaron las fases y la fase orgánica se secó con MgSO₄ anhidro. Después de evaporar el disolvente, se obtuvieron 0.75 g (rendimiento cuantitativo) de (4*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carbaldehído (**260a**) que, al ser muy sensible, se usó inmediatamente en el siguiente paso sintético.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 9.90 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, H-4); 7.78-7.69 (m, 2H, Ph); 7.69-7.61 (m, 2H, Ph); 7.50-7.33 (m, 6H, Ph); 4.51-4.47 (m, 2H, H-2/H-3); 3.84 (ddd, *J* = 11.6, 2.4, 0.9 Hz, 1H, H-1b), 3.77-3.73 (m, 1H, H-1a); 1.63 (s, 3H, CH₃); 1.41 (s, 3H, CH₃); 1.04 (s, 9H, *t*Bu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 200.5 (COH, C-4); 135.5 (CH, Ph); 131.2 (C, Ph); 129.5 (CH, Ph); 127.5 (CH, Ph); 110.7 (C); 80.5 (CH, C-3); 79.5 (CH, C-2); 61.3 (CH₂, C-1); 26.5 (CH₃, *t*Bu); 19.2 (CH₃, Me); 18.1 (CH₃, Me).

Síntesis de (3S)-3-((4S,5R)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3-hidroxi-2,2-dimetilpropanoato de etilo (261a)



Sobre una disolución de 2-bromoisobutirato de etilo (0.25 mL, 1.70 mmol) en THF (2.50 mL), se añadió indio (130 mg, 1.10 mmol) y la mezcla se agitó en ultrasonidos durante 15 min. Después se añadió el aldehído **260a** (0.45 g, 1.10 mmol) y se agitó la mezcla de reacción en ultrasonidos durante toda la noche a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se paró la reacción con 30 mL de una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y se lavó con Et₂O (3 × 100 mL). Las fracciones orgánicas recogidas se secaron con MgSO₄ anhidro, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar un crudo que seguidamente se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (5:1)]. Se obtuvieron 0.38 g (rendimiento del 66 %) de (3S)-3-((4S,5R)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3-hidroxi-2,2-dimetilpropanoato de etilo (**261a**) como un aceite amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.76-7.63 (m, 4H); 7.49-7.36 (m, 6H); 4.40-4.24 (m, 3H, H-2/H-3/H-4); 4.11 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H, Et); 3.84 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H, H-1b); 3.53 (dd, *J* = 10.2, 3.3 Hz, 1H, H-1a); 1.32 (s, 3H, CH₃); 1.27 (s, 3H, CH₃); 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, Et); 1.21 (s, 3H, CH₃); 1.07 (s, 9H, *t*Bu).

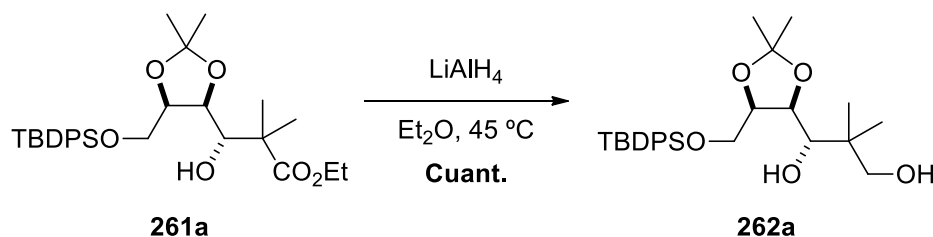
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 176.7 (CO, C-6); 135.1 (CH, Ph); 131.4 (C, Ph); 129.8 (CH, Ph); 128.1 (CH, Ph); 128.0 (CH, Ph); 108.3 (C); 77.5 (CH, C-3); 77.3 (CH, C-2); 71.9 (CH, C-4); 62.9 (CH₂, C-1); 60.2 (CH₂, Et); 45.9 (C, C-5); 27.9 (CH₃, Me); 26.7 (*t*Bu); 25.1 (CH₃, Me); 21.9 (CH₃, Me); 19.3 CH₃, Me); 19.0 (C, *t*Bu); 14.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 515.28 [M+H]⁺; 537.27 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 515.2815 [M+H]⁺ (calculada para C₂₉H₄₃O₆Si: 515.2823); 537.2626 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₉H₄₂O₆NaSi: 537.2642).

[α]_D²⁵ = -15.4 (c = 1.24, CHCl₃).

Síntesis de (1S)-1-((4S,5R)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropano-1,3-diol (262a)



Sobre una disolución del éster etílico **261a** (0.37 g, 0.73 mmol) en Et₂O (20 mL) se añadió hidruro de litio y aluminio (41 mg, 1.09 mmol) y se agitó la mezcla a reflujo durante 5 h. Transcurrido ese tiempo, se eliminó el exceso de reductor con sucesivas adiciones de EtOAc (1.50 mL), KH₂PO₄ (0.80 g) y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (0.50 mL). Se añadió MgSO₄ anhidro y se agitó durante 10 min, se filtró con celita y después de eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 0.18 g (rendimiento cuantitativo) de (1S)-1-((4S,5R)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropano-1,3-diol (**262a**) como un aceite amarillo claro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.75-7.62 (m, 4H); 7.45-7.31 (m, 6H); 4.64 (s, 1H, OH); 4.36-4.24 (m, 2H, H-2/H-3); 3.88 (dd, *J* = 11.1, 8.4 Hz, 1H, H-1b); 3.77 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, H-4); 3.63 (dd, *J* = 11.1, 4.5 Hz, 1H, H-1b); 3.55 (m, 2H, H-6); 1.40 (s, 3H, CH₃); 1.37 (s, 3H, CH₃); 1.08 (s, 9H, ^tBu); 1.07 (s, 3H, CH₃); 1.00 (s, 3H, CH₃).

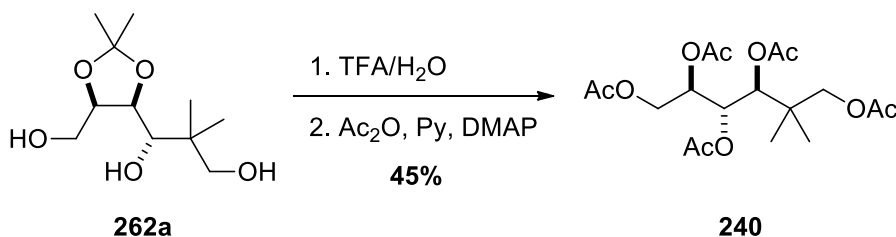
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 135.7 (CH, Ph); 134.0 (C, Ph); 129.4 (CH, Ph); 127.8 (CH, Ph); 108.6 (C); 78.3 (CH, C-3); 76.9 (CH, C-2); 75.3 (CH, C-2); 72.2 (CH₂, C-6); 61.0 (CH₂, C-1); 38.7 (C, C-5); 28.1 (CH₃, Me); 27.6 (CH₃, ^tBu); 25.4 (CH₃, Me); 21.2 (CH₃, Me); 20.4 (CH₃, Me); 17.8 (C, ^tBu).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 473.27 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 473.2717 [M+H]⁺ (calculada para C₂₇H₄₁O₅Si: 473.2717)

[α]_D²⁵ = -21.8 (c = 0.9, CHCl₃).

Síntesis de tetraacetato de (2R,3S,4S)-6-acetoxi-5,5-dimetilhexano-1,2,3,4-tetrailo (240)



Una disolución de **262a** (0.12 g, 0.51 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente y el residuo se disolvió en anhídrido acético (7.50 mL) y en piridina (3.50 mL) y se le añadió una cantidad catalítica de DMAP (10 mg). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y después se evaporó el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:3)] para dar 92 mg (rendimiento del 45%) de tetraacetato de (2R,3S,4S)-6-acetoxi-5,5-dimetilhexano-1,2,3,4-tetrailo (**240**) como un aceite amarillento.

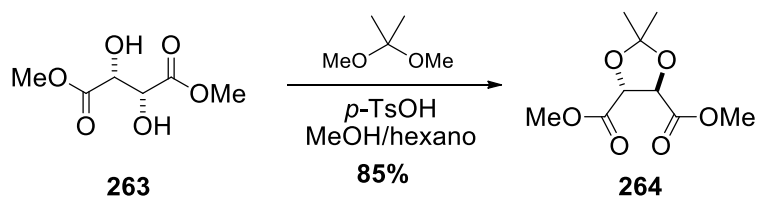
RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 5.44 (dd, $J = 6.0, 2.9$ Hz, 1H, H-3); 5.28 (ddd, $J = 8.2, 2.9, 2.9$ Hz, 1H, H-2); 5.12 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H-4); 4.38 (dd, $J = 12.2, 2.9$ Hz, 1H, H-1b); 4.18 (dd, $J = 12.2, 8.2$ Hz, 1H, H-1a); 3.88 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6b); 3.73 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6a); 2.14 (s, 3H, OAc); 2.07 (s, 3H, OAc); 2.06 (s, 3H, OAc); 2.05 (s, 3H, OAc); 2.04 (s, 3H, OAc); 1.01 (s, 3H, CH₃); 1.00 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 170.9 (CO, OAc); 170.6 (CO, OAc); 170.2 (CO, OAc); 169.8 (CO, OAc); 169.6 (CO, OAc); 74.1 (CH, C-4); 71.2 (CH, C-2); 71.0 (CH, C-3); 69.4 (CH₂, C-6); 62.1 (CH₂, C-1); 38.0 (C, C-5); 21.3 (CH₃, OAc); 20.9 (CH₃, OAc); 20.8 (CH₃, OAc); 20.7 (CH₃, OAc); 20.6 (CH₃, OAc); 20.4 (CH₃, Me); 20.3 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 405.17 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 405.1748 [M+H]⁺ (calculada para C₁₈H₂₉O₁₀: 405.1755).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -18.1 ($c = 0.29$, CHCl₃)

Síntesis de (4*R*,5*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4,5-dicarboxilato de dimetilo (264)

Sobre una disolución de L-tartrato de dimetilo (**263**) comercial (1.00 g, 5.61 mmol) en una mezcla 1:10 MeOH/hexano (45 mL), se añadieron sucesivamente 2,2-dimetoxipropano (1.28 mL, 8.48 mmol) y ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (3.51 mg, 0.02 mmol). La mezcla resultante se agitó a refluxo con eliminación azeotrópica de agua (montaje Dean-Stark) durante 3h, después se enfrió a temperatura ambiente y se añadió carbonato potásico anhidro (7 mg, 0.05 mmol), se agitó durante 4h, se filtró y se eliminaron los disolventes a presión reducida. El residuo se purificó mediante destilación Kugelrohr a 95 °C para rendir 0.95 g (rendimiento del 85%) de (4*R*,5*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4,5-dicarboxilato de dimetilo (**264**) como un aceite amarillo.

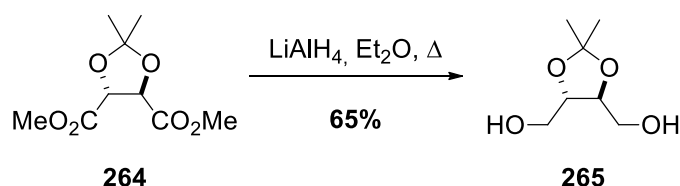
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 4.80 (s, 2H, H-2/H-3); 3.82 (s, 6H, 2 x OMe); 1.49 (s, 6H, 2 x Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 170.0 (CO, C-1/C-4); 113.8 (C); 61.9 (CH, C-2/C-3); 52.7 (CH₃, OMe); 26.3 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 219.08 [M+H]⁺.

[α]_D²⁵ = -39.1 (c = 0.39, CHCl₃).

Síntesis de ((4*S*,5*S*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4,5-diil)dimetanol (**265**)



Sobre una disolución del diéster **264** (0.95, 4.37 mmol) en Et₂O (15 mL) se añadió hidruro de litio y aluminio (0.28 g, 7.30 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo durante 3 h. Transcurrido este tiempo, se enfrió a 0 °C y se añadió H₂O (1 mL), una disolución acuosa 4 N de NaOH (1 mL) y H₂O (2 mL), la mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta observar la desaparición del color gris del hidruro. Se filtró y el filtrado se extrajo con éter, los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener 0.46 g (rendimiento del 65%) de ((4*S*,5*S*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4,5-diil)dimetanol (**265**) como un aceite amarillo.

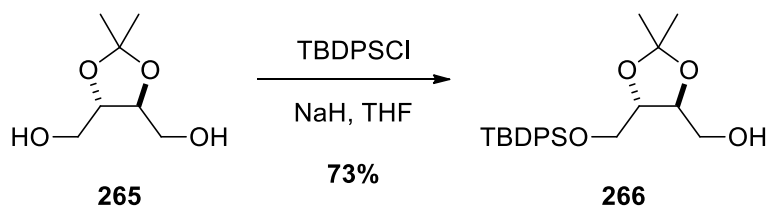
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm : 4.02 (ddd, *J* = 2.4, 1.5, 1.3 Hz, 2H, H-2/H-3); 3.82 (ddd, *J* = 11.8, 2.5, 1.3 Hz, 2H, H-1b/H-4b); 3.70 (ddd, *J* = 11.8, 2.5, 1.3 Hz, 2H, H-1a/H-4a); 1.44 (s, 6H, 2 x Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 109.1 (C); 78.3 (CH, C-2/C-3); 62.1 (CH₂, C-1/C-4); 26.7 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 163.09 [M+H]⁺.

[α]_D²⁵ = +9.1 (c = 0.62, CHCl₃).

Síntesis de ((4*S*,5*S*)-5-(((*tert*-butildifenilsili)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-metanol (266**)**



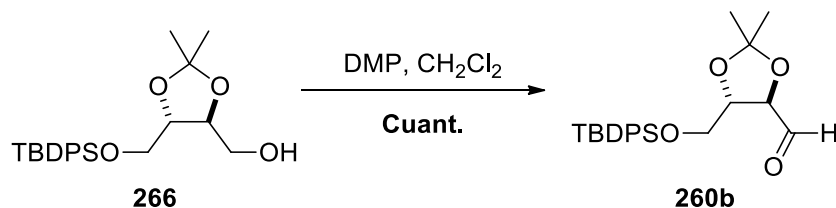
Sobre una disolución del diol **265** (0.32 g, 2.00 mmol) en THF (5 mL) se añadió NaH (96 mg, 2.00 mmol) y la mezcla se agitó 45 min, después se añadió TBDPSCI (0.55 g, 2.00 mmol) y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se diluyó con Et₂O (15 mL) y se lavó con una disolución acuosa de K₂CO₃ al 10% (10 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaCl (10 mL), la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (7:3)] recogiénose 0.58 g (rendimiento del 73%) de ((4*S*,5*S*)-5-(((*tert*-butildifenilsili)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (**266**) como un aceite amarillento.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.71-7.59 (m, 4H, Ph); 7.50 -7.32 (m, 6H, Ph); 4.08 (ddd, *J* = 8.2, 4.5, 3.8 Hz, 1H, H-3); 3.97 (ddd, *J* = 8.2, 6.1, 4.0 Hz, 1H, H-2); 3.87-3.61 (m, 4H, H-1/H-4); 1.42 (s, 3H, Me); 1.39 (s, 3H, Me); 1.07 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 401.21 [M+H]⁺.

[α]_D²⁵ = -5.1 (*c* = 0.92, CHCl₃).

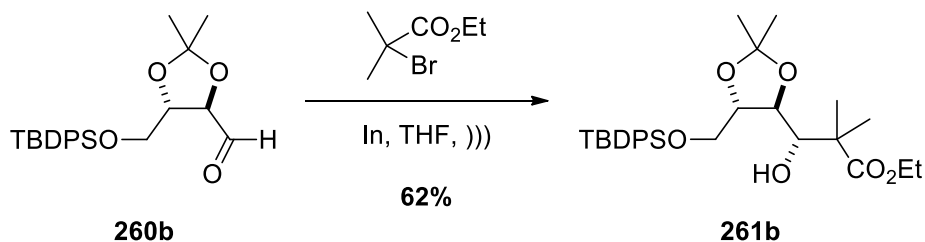
Síntesis de (4*R*,5*S*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carbaldehído (260b)



Sobre una disolución de **266** (0.49 g, 1.20 mmol) en CH₂Cl₂ (12 mL) enfriada a 0 °C se añadió el reactivo peryodinano de Dess-Martin (0.78 g, 1.80 mmol). Después de 2 h a temperatura ambiente, se distribuyó entre 10 mL de una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y 10 mL de Et₂O, se separaron las fases y la fracción orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida, obteniéndose 0.50 g (rendimiento cuantitativo) de (4*R*,5*S*)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carbaldehído (**260b**) como un aceite amarillo oscuro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 9.79 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, H-4); 7.73-7.56 (m, 4H, Ph); 7.48-7.28 (m, 6H, Ph); 4.44 (dd, *J* = 7.1, 1.6 Hz, 1H, H-3); 4.19 (dt, *J* = 7.1, 4.4 Hz, 1H, H-2); 3.91-3.77 (m, 2H, H-1b/H-1a); 1.49 (s, 3H, CH₃); 1.42 (s, 3H, CH₃); 1.04 (s, 9H, ^{*t*}Bu).

Síntesis de (3S)-3-((4S,5S)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3-hidroxi-2,2-dimetilpropanoato de etilo (261b)



Sobre una disolución de bromoisobutirato de etilo (0.28 mL, 1.90 mmol) en THF (3 mL) se añadió indio (0.14 g, 1.30 mmol) y la mezcla se agitó en ultrasonidos durante 15 min. Después, se añadió el aldehído **260b** (0.50 g, 1.30 mmol) y siguiendo un procedimiento similar al descrito para la obtención de **261a**, se obtuvo un crudo que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (7:1)], recogiendo 0.41 g (rendimiento del 62%) de (3S)-3-((4S,5S)-5-(((*tert*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3-hidroxi-2,2-dimetilpropanoato de etilo (**261b**) como un aceite amarillo claro.

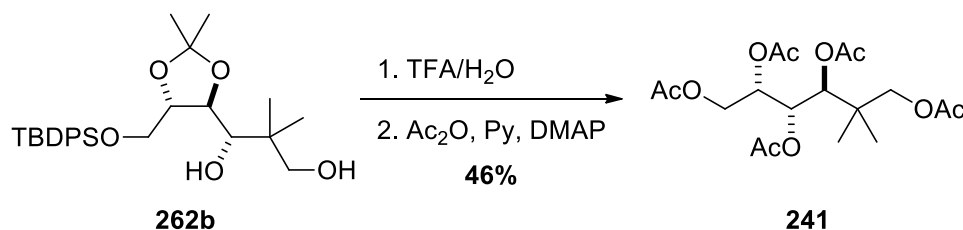
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.78-7.61 (m, 4H, Ph); 7.48-7.33 (m, 6H, Ph); 4.22-4.04 (m, 4H); 3.93-3.78 (m, 2H); 3.74 (dd, *J* = 10.5, 6.1 Hz, 1H, H-1a); 1.33 (s, 3H, Me); 1.28 (s, 3H, Me); 1.27 (s, 3H, Me); 1.26 (s, 3H, Me); 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OEt); 1.06 (s, 9H, *t*Bu).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ_C ppm: 177.2 (CO, C-6); 132.6 (CH, Ph); 129.6 (C, Ph); 129.8 (CH, Ph); 127.1 (CH, Ph); 127.0 (CH, Ph); 109.2 (C); 76.6 (CH, C-3); 71.2 (CH, C-2); 65.0 (CH, C-4); 63.6 (CH₂, C-1); 60.4 (CH₂, Et); 46.3 (C, C-5); 27.9 (CH₃, Me); 26.7 (CH₃, *t*Bu); 25.1 (CH₃, Me); 21.9 (CH₃, Me); 19.3 (CH₃, Me); 14.1 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 537.26 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 537.2626 [M+Na]⁺ (calculada para C₂₉H₄₂O₆NaSi: 537.2642).

[α]_D²⁵: -25.4 (c = 0.64, CHCl₃).

Síntesis de tetraacetato de (2S,3S,4S)-6-acetoxi-5,5-dimetilhexano-1,2,3,4-tetrailo (241)

Una disolución de **262b** (105 mg, 0.40 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y después se evaporó el disolvente coevaporando 3 veces con tolueno.

El residuo se disolvió en anhídrido acético (5.00 mL) y en piridina (2.50 mL), se añadió una cantidad catalítica de DMAP (5 mg) y siguiendo el mismo procedimiento que para la obtención de **247** se obtuvo un crudo que se purificó en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:3)] para dar 74 mg (rendimiento del 46%) de tetraacetato de (2S,3S,4S)-6-acetoxi-5,5-dimetilhexano-1,2,3,4-tetrailo (**241**) como un aceite amarillento.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_{H} ppm: 5.51 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H, H-3); 5.36-5.30 (m, 1H, H-2); 5.16 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-4); 4.26 (dd, $J = 11.6, 5.2$ Hz, 1H, H-1b); 3.88 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6b); 3.81 (dd, $J = 11.6, 7.2$ Hz, 1H, H-1a); 3.73 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6b); 2.14 (s, 3H, OAc); 2.09 (s, 3H, OAc); 2.07 (s, 3H, OAc); 2.04 (s, 3H, OAc); 2.03 (s, 3H, OAc); 0.98 (s, 3H, CH₃); 0.97 (s, 3H, CH₃).

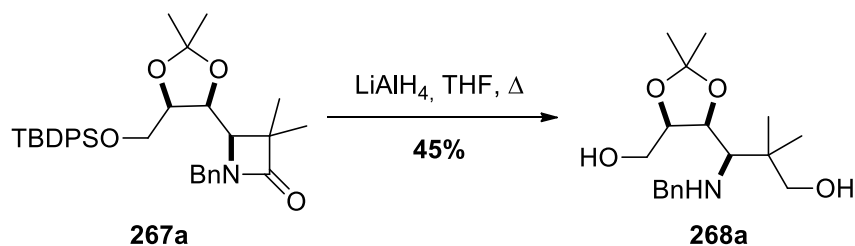
RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_{C} ppm: 171.0 (CO, OAc); 170.5 (CO, OAc); 170.1 (CO, OAc); 169.9 (CO, OAc); 169.7 (CO, OAc); 72.2 (CH, C-4); 69.4 (CH, C-3); 68.9 (CH, C-2); 69.6 (CH₂, C-6); 62.3 (CH₂, C-1); 29.7 (C, C-5); 21.6 (CH₃, OAc); 21.0 (CH₃, OAc); 20.9 (CH₃, OAc); 20.8 (CH₃, OAc); 20.7 (CH₃, OAc); 20.6 (CH₃, Me); 20.5 (CH₃, Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 427.16 [M+Na]⁺.

(+)-HR-ESIMS m/z : 427.1562 [M+Na]⁺ (calculada para C₁₈H₂₈O₁₀Na: 427.1574).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +23.8$ ($c = 0.6$, CHCl₃)

Síntesis de (3*R*)-(bencilamino)-3-((4*S*,5*R*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (268a)



Sobre una disolución de la β -lactama **267a** (0.53 g, 1.13 mmol) en THF (17 mL) se añadió hidruro de litio y aluminio (84 mg, 2.20 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo durante 24 h. Transcurrido ese tiempo, se paró la reacción con H_2O , se filtró sobre celita y el filtrado se extrajo con EtOAc y se lavó, primero con una disolución acuosa de NaOH al 5% en p/p (15 mL) y después con H_2O (20 mL). La fracción orgánica se secó sobre MgSO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para seguidamente purificarlo por cromatografía en columna en gel de sílice [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:5)]. Se obtuvieron 0.16 g (rendimiento del 45%) de (3*R*)-(bencilamino)-3-((4*S*,5*R*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (**268a**) como un aceite amarillo claro.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 4.32 (dd, $J = 6.5, 3.8$ Hz, 1H, H-3); 4.18 (dt, $J = 6.5, 4.8$ Hz, 1H, H-2); 3.90 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H, Bn); 3.88 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H, Bn); 3.71 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H, H-1); 3.51 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, H-6); 2.76 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, H-4); 1.53 (s, 3H, CH_3); 1.41 (s, 3H, CH_3); 1.02 (s, 3H, CH_3); 0.99 (s, 3H, CH_3).

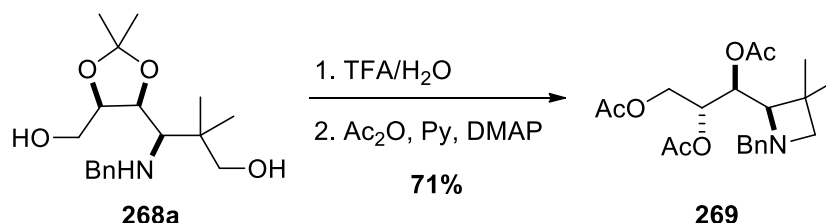
RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 139.5 (C, Ph); 128.6 (CH, Ph); 128.5 (CH, Ph); 127.4 (CH, Ph); 107.9 (C); 78.6 (CH, C-3); 75.3 (CH, C-2); 72.5 (CH_2 , C-6); 62.7 (CH, C-4); 62.4 (CH_2 , C-1); 55.0 (CH_2 , Bn); 39.0 (C, C-5); 27.2 (CH_3 , Me); 25.1 (CH_3 , Me); 24.4 (CH_3 , Me); 20.8 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 324.22 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 324.2159 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{NO}_4$: 324.2169).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -41.8 ($c = 0.8$, CHCl_3)

Síntesis de triacetato de (1*S*,2*R*)-1-((2*R*)-1-bencil-3,3-dimetilazetidín-2-il)propano-1,2,3-triilo (**269**)



Una disolución de **268a** (0.14 g, 0.40 mmol) en una mezcla 1:1 TFA/H₂O (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente y el residuo se disolvió en anhídrido acético (6 mL) y en piridina (3 mL) y se añadió una cantidad catalítica de DMAP (8 mg). Siguiendo un procedimiento similar como en la preparación de **236**, se obtuvo un residuo que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [CH₂Cl₂/MeOH (99:1)] para dar 0.11 g (rendimiento del 71%) de triacetato (1*S*,2*R*)-1-((*R*)-1-bencil-3,3-dimetilazetidín-2-il)propano-1,2,3-triil (**269**) como un aceite amarillento.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃), δ_H ppm: 7.43-7.14 (m, 5H, Ph); 5.54 (dd, *J* = 10.1, 3.1 Hz, 1H, H-3); 5.04 (ddd, *J* = 8.1, 3.1, 3.1 Hz, 1H, H-2); 4.42 (dd, *J* = 12.1, 3.1 Hz, 1H, H-1b); 4.17 (dd, *J* = 12.1, 8.1 Hz, 1H, H-1a); 3.92 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H, Bn); 3.33 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H, Bn); 3.01 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, H-4); 2.98 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-6b); 2.50 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-6a); 2.08 (s, 6H, 2 x OAc); 1.99 (s, 3H, OAc); 1.39 (s, 3H, CH₃); 1.15 (s, 3H, CH₃).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃), δ_C ppm:^[a] 170.7 (CO, OAc); 170.2 (CO, OAc); 169.9 (CO, OAc); 138.5 (C, Ph); 128.2 (CH, Ph); 126.9 (CH, Ph); 73.5 (CH, C-3); 71.4 (CH, C-4); 70.5 (CH, C-2); 64.9 (CH₂, C-6); 63.3 (CH₂, C-Bn); 61.9 (CH₂, C-1); 34.2 (C, C-5); 27.8 (CH₃, OAc); 22.8 (CH₃, OAc); 21.0 (CH₃, OAc); 20.9 (CH₃, Me); 20.8 (CH₃, CH₃, Me).

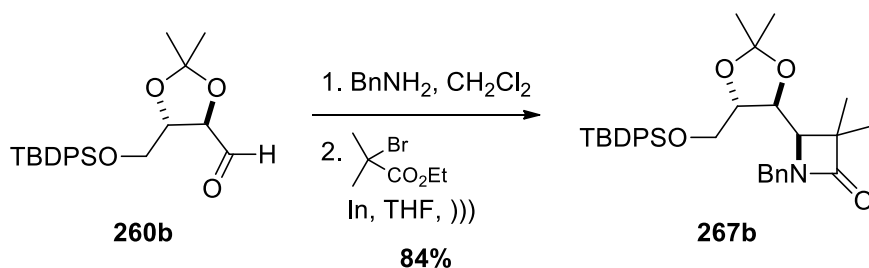
^[a] Las multiplicidades de las señales de ¹³C fueron determinadas mediante el experimento bidimensional HSQC.

(+)-LR-ESIMS *m/z*: 392.21 [M+H]⁺.

(+)-HR-ESIMS *m/z*: 392.2056 [M+H]⁺ (calculada para C₂₁H₂₉NO₆: 392.2028).

[α]_D²⁵ = -3.6 (*c* = 0.23, CHCl₃).

Síntesis de (4*R*)-1-bencil-4-((4*S*,5*S*)-5-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3,3-dimetilazetidin-2-ona (267b)



Sobre una disolución del aldehído **260b** (0.88 g, 2.21 mmol) en CH_2Cl_2 (9 mL) enfriada a 0 °C se añadió bencilamina (26 mL, 2.20 mmol) y se agitó durante 4 h a 0 °C y 1 h a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se filtró a través de celita y el filtrado se concentró a presión reducida.

Este crudo se añadió sobre una disolución de bromoisobutirato de etilo (0.45 mL, 3.00 mmol) e indio (0.23 g, 2.00 mmol) en THF (7 mL) y siguiendo el mismo procedimiento que para la obtención de **267a**, se obtuvo un crudo que, tras ser purificado por cromatografía en columna en gel de sílice [hexano/EtOAc (1:5)], rindió 0.82 g (rendimiento del 84%) de (4*R*)-1-bencil-4-((4*S*,5*S*)-5-(((*terc*-butildifenilsilil)oxi)metil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-3,3-dimetilazetidin-2-ona (**267b**) como un aceite amarillo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.63-7.52 (m, 5H, Ph); 7.44-7.26 (m, 10H, Ph); 4.94 (d, J = 15.2 Hz, 1H, Bn); 4.17 (dd, J = 6.8, 5.4 Hz, 1H, H-3); 4.06 (d, J = 15.2 Hz, 1H, Bn); 3.77 (ddd, J = 6.8, 4.7, 4.4 Hz, 1H, H-2); 3.65 (t, J = 4.4 Hz, 2H, H-1); 3.32 (d, J = 5.4 Hz, 1H, H-4); 1.35 (s, 3H, CH_3); 1.32 (s, 3H, CH_3); 1.23 (s, 3H, CH_3); 1.20 (s, 3H, CH_3); 0.99 (s, 9H, ^tBu).

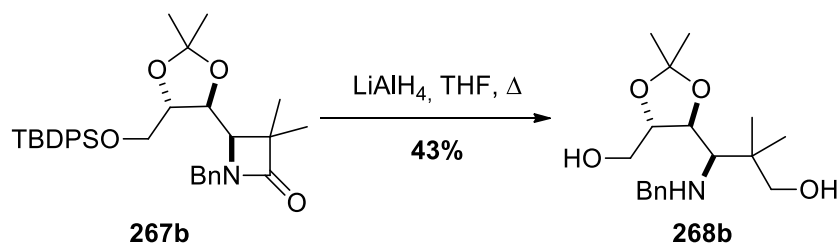
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 174.1 (CO, C-6); 136.3 (C, Ph); 135.5 (CH, Ph); 132.8 (C, Ph); 129.6 (CH, Ph); 128.5 (CH, Ph); 127.8 (CH, Ph); 127.5 (CH, Ph); 109.9 (C); 79.5 (CH, C-3); 77.3 (CH, C-2); 64.2 (CH_2 , C-1); 63.0 (CH, C-4); 55.0 (C, C-5); 45.0 (CH_2 , Bn); 27.8 (CH_3 , Me); 27.3 (CH_3 , Me); 26.8 (CH_3 , ^tBu); 22.6 (CH_3 , Me); 19.1 (C, ^tBu); 17.4 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 558.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 558.3039 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{NO}_4\text{Si}$: 458.3034).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -30.2 (c = 1.1, CHCl_3).

Síntesis de (3*R*)-(bencilamino)-3-((4*S*,5*S*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (268b)



Sobre una disolución de la β -lactama **267b** (0.20 g, 0.40 mmol) en THF (10 mL) se añadió hidruro de litio y aluminio (30 mg, 0.80 mmol) y siguiendo el mismo procedimiento que para la obtención de **268a**, se obtuvo un aceite marrón oscuro que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98:2)] para dar 50 mg (rendimiento del 43%) de (3*R*)-(bencilamino)-3-((4*S*,5*S*)-5-(hidroximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetilpropan-1-ol (**268b**) como un aceite amarillo.

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3), δ_{H} ppm: 7.37-7.12 (m, 5H, Ph); 4.10 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H, Bn); 4.07-3.96 (m, 2H, H-2/H-3); 3.66 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, H-6); 3.36 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H, Bn); 2.99 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, H-1); 2.54 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-4); 1.45 (s, 3H, CH_3); 1.40 (s, 3H, CH_3); 1.28 (s, 3H, CH_3); 1.10 (s, 3H, CH_3).

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3), δ_{C} ppm: 137.8 (C, Ph); 128.9 (CH, Ph); 128.2 (CH, Ph); 126.9 (CH, Ph); 108.7 (C); 79.6 (CH, C-3); 78.8 (CH, C-2); 76.5 (CH, C-4); 64.8 (CH_2 , C-6); 62.8 (CH_2 , Bn); 62.4 (CH_2 , C-1); 34.8 (C, C-5); 28.7 (CH_3 , Me); 27.7 (CH_3 , Me); 27.3 (CH_3 , Me); 23.5 (CH_3 , Me).

(+)-LR-ESIMS m/z : 324.22 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(+)-HR-ESIMS m/z : 324.2178 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{NO}_4$: 324.2169).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = +29.8 ($c = 0.19$, CHCl_3).

